



**T.C.
İNÖNÜ ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
KARDİYOLOJİ ANABİLİM DALI**

**İSOPROTERENOL İLE KALP YETMEZLİĞİ
OLUŞTURULMUŞ RATLARDA COMPOUND
21 VE VALSARTANIN KORUYUCU
ETKİLERİNİN İNCELENMESİ**

**Uzmanlık Tezi
Dr. Zeynep ULUTAŞ KURNAZ**

**Tez Danışmanı:
Doç. Dr. Necip ERMİŞ**

Malatya-2017

**T.C.
İNÖNÜ ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
KARDİYOLOJİ ANABİLİM DALI**

**İSOPROTERENOL İLE KALP YETMEZLİĞİ
OLUŞTURULMUŞ RATLARDA COMPOUND
21 VE VALSARTANIN KORUYUCU
ETKİLERİNİN İNCELENMESİ**

Uzmanlık Tezi
Dr. Zeynep ULUTAŞ KURNAZ

Tez Danışmanı:
Doç. Dr. Necip ERMİŞ

Bu tez, T.C. İnönü Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi (BAP) tarafından
2016/41 proje numarası ile desteklenmiştir

Malatya-2017

TEŞEKKÜR

Tez çalışmamın planlanması ve gerçekleştirilmesinde fikir ve katkılarıyla yardımını esirgemeyen, bilgi birikimi ile eğitimime büyük katkısı olan değerli hocam Doç. Dr. Necip ERMİŞ'e, ilgisi ve tecrübesinin yanında güler yüzünü göstermekten kaçınmayan birlikte çalışmaktan büyük zevk duyduğum kıymetli hocam Kardiyoloji Ana Bilim Dalı Başkanı Prof. Dr. Hasan PEKDEMİR'e sonsuz teşekkür ve saygılarımı sunarım.

Kardiyoloji eğitimimin her aşamasında desteğini, bilgisini ve sabrını esirgemeyen değerli hocalarım Doç. Dr. Jülide YAĞMUR ve Doç. Dr. Mehmet CANSEL'e

Tez çalışmam sırasında bana yol gösterici ve destek olan hocalarım sayın Prof. Dr. Hakan PARLAKPINAR, Prof. Dr. Nigar VARDI, Prof. Dr. Burhan ATEŞ, Prof. Dr. Cemil ÇOLAK'a,

Eğitimim sırasında üzerimde emeği geçen, yanında çalışmaktan onur duyduğum kıymetli hocam Prof. Dr. Ramazan ÖZDEMİR'e ve Doç. Dr. Nusret AÇIKGÖZ'e

Çalışmalarım boyunca yardımını hiç esirgemeyen değerli arkadaşım araştırma görevlisi Onural ÖZHAN'a, deney aşamasında ve sonrasında katkılarından dolayı araştırma görevlisi Azibe Yıldız, Ahmet Kadir ASLAN ve Sevgi BALCIOĞLU'na, bu ekip işinde beraber çaba sarf ettiğimiz tüm doktor, hemşire, sekreter ve personel çalışma arkadaşlarıma çok teşekkür ederim.

2016/41 nolu projeme destek olan BAP birimine teşekkür ederim.

Hayatımın her aşamasında sonsuz destek ve sevgileriyle her zaman yanımda olan aileme en çok da meleğim anneme sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Dr. Zeynep Ulutaş Kurnaz

ÖZET

İSOPROTERENOL İLE KALP YETMEZLİĞİ OLUŞTURULMUŞ RATLARDACOMPOUND 21VE VALSARTANIN KORUYUCU ETKİLERİNİN İNCELENMESİ

Amaç: İsoproterenol ile in vivo kalp yetmezliği geliştirilmiş ratlarda ilk non peptit yapıda ve spesifik AT2 reseptör agonisti olan compound 21' in kardiyak hasardan koruyucu etkilerini araştırmak ve AT1 reseptör antagonistisi olan valsartan ile karşılaştırmak amaçlanmıştır.

Gereç ve Yöntem: Bu çalışmada tahmini ağırlıkları 250-400 g olan 56 adet Wistar-Albino ırkı erkek rat kullanılmıştır. Her biri 7 adet olan 8 gruba ayrılmıştır. Grup 1 (SHAM grubu) e herhangi bir ilaç uygulanmadı. Grup 2 (ISO) 180 mg/kg dozunda isoproterenol s.c. 24 saat aralıklarla iki doz uygulandı. Grup 3, Grup 4 ve Grup 5 e sırasıyla valsartan(30 mg/kg per oral) ,Compound 21 (0.03 mg/kg intraperitoneal) ve Valsartan + Compound 21 kombinasyonu 30 gün boyunca verildi. Grup 6, Grup 7 ve Grup 8'e ise sırasıyla Valsartan, Compound 21 ve Valsartan + Compound 21 kombinasyonu aynı uygulama şekli, süresi ve dozunda uygulanıp deneyin 29. ve 30. gününde İsoproterenol (180 mg/kg sc) verildi. Deneyin başlangıcında ve sonunda ratlara transtorasik ekokardiyografi yapıldı. Deney sonlandırılmadan önce karotid artere takılan kanülle kan basıncı, kalp hızı, EKG değişiklikleri kaydedildi. Ratların kalp dokusundan histopatolojik ve biyokimyasal değerlendirmeler yapıldı.

Bulgular: Çalışmamızda Compound 21'in kalp yetmezliğinden koruyucu etkisi valsartana üstün bulundu. Ekokardiyografik ve biyokimyasal değerlendirme sonuçlarına göre Compound 21 ve Valsartan kalp yetmezliğinden koruyucu etki gösterdi. Histopatolojik bulgularda ise Compound 21 ve Valsartan + Compound 21 kombine tedavisi sadece valsartan uygulamasına göre kalp yetmezliği gelişimini istatistiksel olarak daha fazla azalttı.

Sonuç: Bu sonuçlar, Ang II' nin AT1 ve AT2 reseptörleri üzerinden kalp yetmezliğinde önemli bir rol oynadığını desteklemektedir. Valsartanın AT1 reseptörlerine antagonist, compound 21'in AT2 reseptörlerine agonist etki mekanizmaları kalbi AII'nin zararlı etkilerinden korumuştur.

Anahtar kelimeler: Anjiotensin 2, compound 21, kalp yetmezliği, valsartan

ABSTRACT
REVIEW OF THE PROTECTIVE EFFECTS OF COMPOUND 21 AND
VALSARTAN IN ISO-INDUCED HEART FAILURE IN RATS

Aim: The study aimed to research the protective effects of Compound 21, the first specific non-peptide AT 2 receptor agonist, from cardiac injury in the rats with isoproterenol-induced heart failure in vivo and compare it with valsartan, AT 1 receptor antagonist.

Materials and Method: In this study, 56 Wistar albino race male rats (estimated body weights 250 to 400 g) were used. They were divided into 8 groups of 7. Group 1 (SHAM group) was not given any drug while Group 2 (ISO group) was injected with two doses of Isoproterenol (180 mg/kg s.c) at intervals of 24 hours. Group 3, Group 4, and Group 5 were administered with Valsartan (30 mg/kg per oral), C21 (0.03 mg/kg intraperitoneal), and the combination of Valsartan and C21 for 30 days respectively. Group 6, Group 7, and Group 8 were subjected to the same administration mode, duration and dose and in the 29th and 30th day of the experiment, Isoproterenol (180 mg/kg s.c) was given. Transthoracic echocardiography was performed in the rats at the beginning and end of the experiment. The blood pressure, heart rate, and EKG alterations were monitored via the carotid artery cannula before ending the experiment. The histopathological and biochemical measurements were made on the cardiac tissue of the rats.

Findings: In our study, the protective effect of C21 from heart failure is found to be superior than that of Valsartan. According to the echocardiographic and biochemical measurement results, C21 and Valsartan showed the protective effect from heart failure. In the histopathological findings, the treatment with C21 and the combination of Valsartan and C21 statistically reduced the heart failure progression more than the administration of Valsartan alone did.

Result: These results support the hypothesis that Ang II plays a key factor in heart failure via AT 1 and AT 2 receptors. The mechanisms of antagonist action of Valsartan at AT 1 receptors and of agonist action of C21 at AT 2 receptors protect the heart from the harmful effects of AII.

Keywords: Angiotensin II, compound 21 (C21), heart failure (HF), valsartan

İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR.....	i
ÖZET	ii
ABSTRACT.....	iii
İÇİNDEKİLER	iv
KISALTMALAR LİSTESİ.....	vii
TABLolar DİZİNİ	x
ŞEKİLLER VE RESİMLER DİZİNİ	xi
1. GİRİŞ VE AMAÇ.....	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. Kalp Yetmezliği	3
2.1.1. Tanımı	3
2.1.2. Kalp Yetersizliği Gelişim Süreci.....	4
2.1.3. Epidemiyoloji ve Etyoloji.....	5
2.1.4. Fizyopatoloji.....	7
2.1.5. Kalp Yetersizliğindeki Kompansatuvar Mekanizmalar	7
2.1.6. Semptom ve Bulgular.....	9
2.1.7. Temel Başlangıç İncelemeleri.....	10
2.1.7.1. Natriüretik Peptitler, Elektrokardiyogram ve Ekokardiyografi.....	10
2.1.8. Tedavi.....	13
2.1.8.1. Düşük Ejeksiyon Fraksiyonlu Kalp Yetmezliği Olan Semptomatik Hastaların Hepsinde Önerilen Tedaviler	13
2.1.8.1.1. Anjiyotensin Dönüştürücü Enzim İnhibitörleri.....	13
2.1.8.1.2. Beta Blokerler.....	14
2.1.8.1.3. Mineralokortikoid / Aldosteron Reseptör Antagonistleri	14
2.1.9. Düşük Ejeksiyon Fraksiyonlu Kalp Yetmezliği Olan Semptomatik Hastalarda Önerilen Diğer Tedaviler.....	15
2.1.8.2.1. Diüretikler	15
2.1.8.2.2. Anjiyotensin Reseptörü Neprilisin İnhibitörü	15
2.1.8.2.3. If-Kanal İnhibitörü.....	16
2.1.8.2.4. Anjiyotensin II Tip I Reseptör Bloke Edicileri	16

2.1.8.2.5. Hidralazin ve İzosorbid Dinitrat Kombinasyonu.....	16
2.1.8.3. Düşük Ejeksiyon Fraksiyonlu Kalp Yetmezliği Olan Semptomatik Hastalarda Daha Az Faydaya Sahip Diğer Tedaviler.....	17
2.1.8.3.1. Digoksin ve Diğer Dijital Glikozitler.....	17
2.1.8.3.2. N-3 Çoklu Doymamış Yağ Asitleri.....	17
2.1.8.4. Düşük Ejeksiyon Fraksiyonlu Kalp Yetmezliği Olan Semptomatik Hastalarda Önerilmeyen Tedaviler (Kanıtlanmamış Fayda).....	18
2.1.8.4.1. 3-Hidroksi 3 Metilglutaril-Koenzim-a Redüktaz İnhibitörleri (Statinler).....	18
2.1.8.4.2. Oral Antikoagülanlar Ve Antitrombosit Tedavi.....	18
2.1.8.4.3. Renin İnhibitörleri.....	18
2.1.8.5. Düşük Ejeksiyon Fraksiyonlu Kalp Yetmezliğinin Cerrahi Dışı Tedavisi.....	19
2.1.8.5.1. İmplant Edilebilir Kardiyoverter Defibrilatör (ICD).....	19
2.1.8.5.2. Ani Kardiyak Ölümün İkincil Olarak Önlenmesi.....	19
2.1.8.5.3. Ani Kalp Ölümünün Birincil Olarak Önlenmesi.....	19
2.1.8.5.4. Kardiyak Resenkronizasyon Terapisi (CRT).....	20
2.2. Renin Anjiyotensin Sistemi.....	22
2.2.1. Kalp Yetersizliği Fizyopatolojisinde Renin Anjiyotensin Aldosteron Sisteminin Yeri.....	22
2.2.2. AII ve Reseptörleri.....	22
2.2.2.2. AT2 Reseptörü.....	25
2.2.2.3. AT2 Agonistleri.....	27
2.3. Valsartan.....	29
2.4. İsoptorenol.....	30
2.5. Serbest Radikaller.....	31
2.5.1. Kalp Yetersizliği ve Oksidatif Stres.....	31
2.5.2. Hücrede Hasar Oluşumu.....	32
2.5.2.1 Nitrik oksit (NO•) Radikali.....	32
2.6. Radikallere Karşı Savunma Mekanizmaları.....	34
2.6.1. Antioksidanlar.....	34
2.6.1.1. Gluatyon Peroksidaz.....	35
2.6.1.2. Süperoksit Dismutaz (SOD).....	35
2.7.Konneksin.....	36
3. GEREÇ VE YÖNTEM.....	37

3.1. Deneý Hayvanları ve Beslenmeleri	37
3.2. Deneý Gruplarının Oluřturulması ve Deneysel Uygulamalar	37
3.3. Elektrokardiyografi ve Ekokardiyografi Uygulanması.....	38
3.4. Cerrahi İşlem	39
3.5. Histolojik Metotlar.....	40
3.5.1. Histokimyasal Analizler	40
3.5.2. İmmünohistokimyasal Analizler	40
3.6. Biyokimyasal Değerlendirme.....	41
3.6.1. Doku Biyokimyası.....	41
3.6.6.2. Süper Oksit Dismutaz (SOD) Deneýi.....	41
3.6.6.3. GSH-Px Deneýi	41
3.6.6.4. Lipid Peroksidasyon Tahlili (MDA).....	41
3.6.6.5. Toplam Glutasyon (tGSH) Deneýi	42
3.6.6.6. Myeloperoksidaz Aktivitesi (MPO).....	42
3.6.7. Nitrik Oksit Deneýi (NO).....	42
3.6.8. Protein Tayini.....	43
3.9. İstatistik	43
4. BULGULAR.....	44
4.1. Deneý Hayvanlarının Özellikleri	44
4.1.1. Deneý Öncesi Ortalama Rat Aęırlıkları	44
4.1.2. Deneý Sonrası Ortalama Rat Aęırlıkları	44
4.1.3. Ratların Deneý Sonrası Ortalama Kalp Ağırlıkları.....	45
4.2. Kalp Hızı, Ortalama Kan Basıncı ve EKG Değişiklikleri	46
4.3. EKG Bulguları.....	46
4.4. EKO Bulguları.....	52
4.5. Histolojik Bulgular	54
4.5.1. Miyokardiyal Dokunun Genel Morfolojisi	54
4.5.2. Konneksin-43 Ekspresyonu	58
5. TARTIŞMA	68
KAYNAKLAR	80

KISALTMALAR LİSTESİ

AII	: Anjiotensin II
ACE	: Anjiyotensin dönüştürücü enzim
ACEİ	: Anjiyotensin dönüştürücü enzim inhibitörleri
AST	: Aspartat amino transferaz
AF	: Atriyal fibrilasyon
AMİ	: Akut miyokard infarktüsü
ANP	: A-tipi natriüretik peptid
ARB	: Anjiotensin reseptör blokeri
AT1	: Anjiyotensin II tip 1
AT2	: Anjiyotensin II tip 2
AT1R	: Anjiyotensin II tip 1 reseptörü
AT2R	: Anjiyotensin II tip 2 reseptörü
BNP	: B- tipi natriüretik peptid
C21	: Compound 21
CAT	: Katalaz
CGMP	: Siklik guanozin mono fosfat
CK	: Kreatin kinaz
CRT	: Kardiyak resenkronizasyon tedavisi
Cx43	: Konneksin 43
DEF-KY	: Düşük ejeksiyon fraksiyonlu kalp yetmezliği
DM	: Diabetes mellitus
E/A	: Erken (E) ve geç atrial (A) ventriküler dolum velositesi
EDT	: E deselerasyon zamanı
EF	: Ejeksiyon fraksiyonu

EKG:	: Elektrokardiyografi
EPA	: Eikosapentaenoik asit
FDA	: Food Drug Administration
FS	: Fraksiyonel kısalma
GPCR	: G-protein bağlı reseptör
GSH	: Glutasyon
GSH-Px	: Glutasyon peroksidaz
GSSH	: Glutasyon disülfid
GST	: Glutasyon S-Transferaz
HT	: Hipertansiyon
ICD	: İmplant edilebilir kardiyoverter defibrilatör
ISO	: İsopterenol
IVS	: İnterventriküler septum
İ.P.	: İnteraperitoneal
İ.V.	: İntravenöz
KAH	: Koroner arter hastalığı
KB	: Kan basıncı
KEF-KY	: Korunmuş ejeksiyon fraksiyonlu kalp yetmezliği
KH	: Kalp hızı
KKY	: Konjestif kalp yetmezliği
KY	: Kalp yetmezliği
LBBB	: Sol dal bloğu
LVEF	: Sol ventrikül ejeksiyon fraksiyonu
LVFS	: Sol ventrikül fraksiyonel kısalması
LVIDd	: Sol ventrikül diastol sonu çapı
LVIDs	: Sol ventrikül sistol sonu çapı

MAPK	: Mitojen aktive protein kinaz
MDA	: Malondialdehit
MPO	: Miyeloperoksidaz
MRA	: Mineralokortikoid reseptör antagonisti
MPX	: Miyeloperoksidaz
NADPH	: Nikotinamid adenin dinükleotid fosfohidrogenaz
NO	: Nitrik oksit
NOS	: Nitrik oksit sentaz
NOAC	: Non-vitamin K antagonisti oral antikoagülanları
NP	: Natriüretik peptit
NT	: Natriüretik peptitler
NYHA	: New York Kalp Cemiyeti
ODEF-KY	: Orta düzey ejeksiyon fraksiyonlu kalp yetmezliği
PG	: Prostoglandin
PW	: Posterior duvar
RAS	: Renin anjiotensin sistemi
RAAS	: Renin anjiotensin aldosteron sistemi
RKÇ	: Randomize klinik çalışmalar
ROS	: Reaktif oksijen türleri
S.C.	: Subkutan
SHS	: Spontan hipertansif sıçan
SOD	: Süperoksit dismutaz
SoVEF	: Sol ventrikül ejeksiyon fraksiyonu
TTE:	: Transtorasik ekokardiyografi

TABLolar DİZİNİ

Tablo 2.1. Kalp yetersizliğinin sınıflaması ve tanımı	4
Tablo 2.2. New York Kalp Cemiyeti işlevsel sınıflaması ve spesifik aktivite skalası	5
Tablo 2.3. Kalp yetmezliği etyolojisi	6
Tablo 2.4. Kalp Yetersizliğinin belirti ve bulguları	10
Tablo 2.5. Akut olmayan başlangıç gösteren kalp yetersizliğine yönelik tanı algoritması	12
Tablo 2.6. Kalp yetmezliği tedavi algoritması	21
Tablo 4.1. Gruplar Arasındaki EKG Değişikliği	47
Tablo 4.2. Grupların kalp hızı, kan basıncı ortanca(min-max) ve p değeri	51
Tablo 4.3. Grupların PR, QRS ve QT mesafelerinin ortanca(min-max) ve p değeri.....	51
Tablo 4.4. Grupların transtorasik ekokardiyografi değişikliklerinin ortanca (min-max) ve p değeri	52
Tablo 4.5. Grupların histopatolojik ve konneksin-43 değerlendirme sonuçları (med (minmax)).....	59
Tablo 4.6. Grupların histopatolojik ve konneksin-43 değerlendirme sonuçları (AO±SD).....	60
Tablo 4.7. P değerleri.....	60

ŞEKİLLER VE RESİMLER DİZİNİ

Şekil 2.1. Renin-anjiyotensin sistemi ve anjiyotensin reseptörleri	24
Şekil 2.2. AT1 ve AT2 reseptörünün etkileri	27
Şekil 2.3. Oksijen radikallerinin etki mekanizması	34
Şekil 4.1. Deney öncesi ortalama rat ağırlıkları	44
Şekil 4.2. Deney sonrası ortalama rat ağırlıkları.....	45
Şekil 4.3. Ratların deney sonu ortalama kalp ağırlıkları	45
Şekil 4.4. Ratlarda normal Ekg görüntüsü	48
Şekil 4.5. Rat Ekg sinde ventriküler ekstrasistol görüntüsü.....	48
Şekil 4.6. Rat Ekg sinde ST depresyonu.....	49
Şekil 4.7. Rat Ekg sinde T negatifliği.....	49
Şekil 4.8. Rat Ekg sinde dal bloğu	49
Şekil 4.9. Valsartan ve C21'in ISO hasarına karşı kalp dokusundaki MDA düzeylelerine etkisi	61
Şekil 4.10. Valsartan ve C21'in ISO hasarına karşı kalp dokusundaki CAT enzim aktivitesi üzerine etkisi	62
Şekil 4.11. Valsartan ve C21'in ISO hasarına karşı kalp dokusundaki GSH-Px enzim aktivitesi üzerine etkisi	63
Şekil 4.12. Valsartan ve C21'in ISO hasarına karşı kalp dokusundaki MPO enzim aktivitesi üzerine etkisi.....	64
Şekil 4.13. Valsartan ve C21'in ISO hasarına karşı kalp dokusundaki tNO düzeylelerine etkisi.....	65
Şekil 4.14. Valsartan ve C21'in ISO hasarına karşı kalp dokusundaki SOD enzim aktivitesi üzerine etkisi.....	66
Şekil 4.15. Valsartan ve C21'in ISO hasarına karşı kalp dokusundaki tGSH düzeylelerine etkisi.....	67
Resim 3.1. Deneyin cerrahi aşamadaki görüntüsü.....	39
Resim 4.1. Ratlarda apikal dört boşluk transtorasik ekokardiyografi görüntüsü... 53	
Resim 4.2. Rat ekokardiyografisi MMode görüntüsü.....	53
Resim 4.3. Ratlarda mitral kapak E/A oranı EDT ve kalp hızı ölçümü ekokardiyografi görüntüsü.....	54
Resim 4.4. Miyokardiyal dokunun normal histolojik görünümü.....	55

Resim 4.5. ISO Grubu.....	56
Resim 4.6. ISO+VAL grubu.....	57
Resim 4.7. Kardiyomiyositlerin uzun eksenine paralel düzlemde, interkalat disklerdeki konneksin-43 reaktivitesi	58
Resim 4.8. İnterkalat disklerdeki konneksin-43 reaktivitesi	59



1. GİRİŞ VE AMAÇ

Kalp yetmezliği (KY), tanı ve tedavisinde gelişmeler olmasına karşın, yaşlı popülasyonun ve koroner arter hastalığından iyileşen hasta sayısının artması sebebiyle gün geçtikçe artan önemli bir kardiyovasküler mortalite ve morbidite kaynağıdır (1).

Erişkinlerde en sık görülen ölüm ve hastaneye yatış nedenlerinden biri olup giderek global bir epidemi haline gelmektedir. Halen dünyada yaklaşık 26 milyon erişkin KY ile yaşamaktadır. HAPPY çalışmasında ülkemizde mutlak erişkin KY prevalansı %2.9 olarak bulunmuştur (2).

Akut kalp yetmezliği günümüzde 65 yaş üstü erişkinlerde hastaneye yatışların en sık sebebinin oluşturmaktadır. Toplumun yaşının artması, akut koroner sendrom geçiren hastalarda sağ kalımın iyileşmesi ve diğer hastalıklara bağlı mortalitenin azalması sonucu kalp yetmezliği insidansı ve kalp yetmezliği olan hastaların tedavi maliyeti giderek artmaktadır (3).

Kalp yetersizliği tedavisindeki gelişmelere rağmen, günümüzde prognozu hala çok kötüdür. Kalp yetersizliği tanısı alan tüm hastaların yarısı 5 yıl içerisinde ve ilerlemiş kalp yetersizliği olan hastaların yarısından fazlası ise 1 yıl içerisinde kaybedilmektedir (4).

İsoproterenol (ISO) sentetik, non selektif beta-adrenoseptör olup pozitif inotrop ve kronotrop etkilidir. ISO yıllardır sıçanlarda kalp yetmezliği modelini oluşturmak için kullanılmıştır. Bu sıçan modelinin kardiyak patofizyolojik ve morfolojik değişiklikleriyle insan kalp yetmezliği karşılaştırılabilir. ISO endojen antioksidan defans siteminde azalma, kalp kası hücrelerinde disfonksiyon ve lipid peroksidasyonu yoluyla kardiyak hasara yol açar (5).

Renin anjiyotensin sistemi (RAS)'nin konjestif kalp yetmezliği (KKY), sistemik hipertansiyon ve miyokart infarktüsü patofizyolojisinde önemli rol oynadığı gösterilmiştir(6). Bu sistemin asıl, aktif mediatörü anjiyotensin 2' dir. Endotel ve düz kas hücreleri üzerindeki direkt etkileri aracılığıyla vasküler tonus ve sıvı elektrolit dengesini düzenler böylece kardiyovasküler sistem homeostazına önemli bir katkı sağlar (7). Anjiyotensin II'nin adrenal bezler, böbrek, beyin, hipofiz bezi, damar düz kasları ve

sempatik sinir sistemi gibi geniş spektrumlu bir doku hedefi vardır (8). AT1 ve AT2 olmak üzere iki farklı reseptör alt tipi tanımlanmıştır. Şu ana kadar yapılmış çalışmalar Anjiotensin II'nin kardiyovasküler sistemde pek çok etkisinin AT1 reseptörü üzerinden gerçekleştiğini göstermektedir (9). Kardiyomiyositler üzerinde hem AT1 hem de AT2 reseptörleri bulunmaktadır. Erişkin yaşamda AT2 reseptör yoğunluğu azalır ancak kardiyak hipertrofi, miyokard infarktüsü, kardiyomiyopati ve konjestif kalp yetmezliği gibi patolojik durumlarda bu reseptör sayısında belirgin artış olmaktadır(10).AT2 reseptörünün etkinleşmesinin, antiinflamatuvar, antiproliferatif, antihipertrofik, anti-fibrotik, proapoptotik ve vazodilatatör yanıtlar ürettiği gösterilmiştir. AT2 reseptör agonistleri peptid (CGP42112A) ve non peptid (Compound 21) yapıda görülmektedir. Wan ve ark. ilk non peptid selektif AT2 reseptör agonisti compound 21'i (C21) tanımlamışlardır (11).Araştırmacılara in vitro ve in vivo şartlarda uyarı imkanı veren bu bileşik AT2 reseptör çalışmalarına büyük bir ivme kazandırmıştır. C21 ile AT2 reseptörünün direkt uyarımı antiinflamatuvar ve antioksidan mekanizmalarla kardiyak fonksiyonu düzeltir (12). C21'in aksonların uzamalarını indüklediği, mitojen aktive edici protein kinazları (MAPK) uyardığı, sıçanlarda duodenal mukus alkalizasyonunu artırdığı ve spontan hipertansif sıçanlarda (SHS) ortalama arteriyel kan basıncını azalttığı gösterilmiştir(13).

Valsartan; kalp yetmezliği olan hastalarda (NYHA evre 2-4) morbidite ve mortaliteyi azaltan, yaşam kalitesini artıran en yaygın kullanılan anjiotensin reseptör blokeridir. Kronik hipertansiyon ve miyokart infarktüsü ilişkili kardiyak ve vasküler remodellingi inhibe eder. Valsartan, AII aracılı oksidatif stresi AT1 reseptör blokajı yaparak indirekt, antioksidan etkisi sayesinde de direkt olarak kalbi oksidatif hasardan korumaktadır (5).

Bu çalışmada antiinflamatuvar, antiapopitotik ve antioksidatif mekanizmalarla yararlı etkisini gösteren C21'inisoproterenol ile oluşturulmuş kardiyotoksisite özellikle kalp yetmezliği üzerinde koruyucu etkisinin araştırılması ve kalp yetmezliği tedavisindeki yeri önceki çalışmalarda gösterilmiş valsartan ile karşılaştırılması amaçlanmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Kalp Yetmezliği

2.1.1. Tanımı

Kalp yetmezliği, kalpteki yapısal veya işlevsel bozukluk sonucu kalp debisinde azalma ve/veya dinlenme yada yüklenme sırasında kalp basınçlarında yükselme oluşturan, hastalarda tipik belirtilerin (nefes darlığı, ayak bileğinde şişme ve halsizlik gibi) ve bazen beraberinde eşlik eden bulguların (artmış jügüler ven basıncı, akciğerde krepatasyon ve periferik ödem gibi) görülebildiği klinik bir sendromdur. Klinik belirtiler ortaya çıkmadan önce, hastalarda KY öncüsü olabilen asemptomatik yapısal ya da işlevsel kardiyak anormallikler (sistolik ya da diyastolik sol ventrikül işlev bozukluğu) izlenebilir. Etken kardiyak nedenin ortaya çıkarılması KY'nin tanısı açısından önemlidir. Bu genellikle sistolik ve / veya diyastolik ventriküler disfonksiyona neden olan bir miyokard anormalliğidir (14).

KY belirtilerinin çoğu ayırt ettirici değildir, bu yüzden sınırlı tanısal değer taşırlar(15). KY'yi tanımlamak için kullanılan temel terminoloji tarihseldir ve sol ventrikül ejeksiyon fraksiyonunun (EF) ölçümüne dayanır. EF atım hacminin (diyastol sonu hacimden sistol sonu hacmin çıkarılması) diyastol sonu hacmine bölünmesi ile elde edilir (14). KY, normal sol ventrikül ejeksiyon fraksiyonlu (SoVEF) (EF >%50), korunmuş (KEF-KY) hastalardan, düşük SoVEF'li (EF<%40) (DEF-KY) hastalara dek geniş bir hasta yelpazesini barındırır. SoVEF'si %40-49 arasında olan 'gri alan'daki hastalar, orta düzey ejeksiyon fraksiyonlu (ODEF-KY) olarak tanımlanır. Kalp yetmezliği olan hastaların sol ventrikül ejeksiyon fraksiyonuna dayalı ayrımı altta yatan farklı etyoloji, demografi, komorbidite ve tedavilere yanıt açısından önemlidir (16).

KEF-KY tanısında; öncelikle kronik akciğer hastalığı ve anemi gibi KY belirtilerine yol açabilecek kalp-dışı olası nedenler dışlanmalıdır. Bu hastaların sıklıkla kalpleri büyümemiştir ve çoğunda sol ventrikül duvar kalınlıkları ile sol atriyum boyutları artmıştır. Çoğunda, diyastolik işlev bozukluğunun (bu nedenle 'diyastolik KY' terimi doğmuştur) kanıtları bulunur (17).

Tablo 2.1. Kalp yetersizliğinin sınıflaması ve tanımı

Korunmuş (KEF-KY),orta düzey (ODEF-KY) ve düşük (DEF-KY) ejeksiyon fraksiyonlu kalp yetersizliğinin tanımı			
KY tipi	DEF-KY	ODEF-KY	KEF-KY
KRİTERLER	Belirtiler ± Bulgular	Belirtiler ± Bulgular	Belirtiler ± Bulgular
	SoVEF <%40	SoVEF %40-49	SoVEF ≥%50
	–	1.Natriüretik peptit düzeylerinde yükselme; 2.En az bir ek kriter: a.İlişkili yapısal kalp hastalığı (Sol ventrikül hipertrofisi ve/ya da Sol atrial genişleme), b.Diyastolik işlev bozukluğu	1.Natriüretik peptit düzeylerinde yükselme; 2.En az bir ek kriter: a.İlişkili yapısal kalp hastalığı (Sol ventrikül hipertrofisi ve/ya da Sol atrial genişleme), b.Diyastolik işlev bozukluğu

2.1.2. Kalp Yetersizliği Gelişim Süreci

Kalp yetmezliği terimi hasta tedavi sonrası asemptomatik olsa da New York Kalp Cemiyeti (NYHA) fonksiyonel sınıflamasına göre derecelendirilen semptomatik bir sendrom olarak tanımlanmıştır. Tipik KY belirti ve bulgularını hiçbir zaman sergilememiş olan bir hasta, “asemptomatik sol ventrikül sistolik işlev bozukluğu” (ya da altta yatan kardiyak anomali) ile tanımlanmaktadır. Bir süredir KY olan hastalar sıklıkla ‘kronik KY’ olarak tanımlanır. Belirti ve bulguları tedavi ile en az bir aydır kontrol altında olan hastalar için ‘kararlı’ (stabil) terimi kullanılmaktadır. Eğer kronik kararlı KY’ de akut semptomlar gelişirse, hasta ‘dekompanse’ olarak tanımlanabilir ve bu durum hastaneye başvuruyu gerektirecek şekilde ‘akut KY’ olarak gelişebilir(18). Yeni (‘de novo’) KY, örneğin akut miyokart enfarktüsünün sonucu olarak akut bir şekilde ya da bilinmeyen bir süredir asemptomatik kardiyak işlev bozukluğu olan bir kişide subakut tarzda karşımıza çıkabilir ve klinik tablo devam edebileceği gibi, iyileşerek hasta ‘kompanse’ hale de gelebilir. Hastaların belirti ve bulguları gerilese de, altta yatan kardiyak işlev bozukluğu düzelmeyebilir, bu durumda hastalar tekrarlayan ‘dekompanse’ için risk altına girerler. Nadiren KY tamamen iyileşebilecek bir nedene bağlı (örn. akut viral miyoperikardit) gelişebilir. Özellikle ‘idiyopatik’ dilate kardiyomyopati hastalarında, hastalığın seyrini değiştiren modern tedavilerle (anjyotensin dönüştürücü enzim (ACE) inhibitörü, beta-bloker ve mineralokortikoid reseptör antagonisti (MRA)) sol ventrikül sistolik fonksiyonunda

tam ya da tama yakın iyileşme sağlanabilir. ‘Konjestif KY’ terimi, konjesyonun (su ve tuz tutulumu) kanıtları bulunan akut ya da kronik KY’yi tanımlamaktadır. Bu terimlerin çoğu veya tümü, hastalığın evresine göre aynı hasta için farklı zamanlarda kullanılabilir(14).

Tablo 2.2.New York Kalp Cemiyeti işlevsel sınıflaması ve spesifik aktivite skalası

Sınıf I	Fiziksel aktivite kısıtlılığı olmayan hastalardır. Yüksek düzeyde egzersizle semptomlar ortaya çıkmaktadır.	Hasta > 7 METS gerektiren aktiviteleri yapabilir. Basketbol, 5 mph yürüme
Sınıf II	Fiziksel aktivite açısından hafif kısıtlılığı olan hastalardır. Orta düzeyde egzersizle semptomlar ortaya çıkmaktadır.	Hasta > 5 METS gerektiren aktiviteleri yapabilir. Dans, bahçe işi, cinsel aktivite, 4 mph yürüme
Sınıf III	Fiziksel aktivite açısından belirgin derecede kısıtlanmış olan hastalardır. Hafif düzeyde egzersizle semptomlar ortaya çıkmaktadır.	Hasta > 2 METS enerji gerektiren aktiviteleri yapabilir. Duş alma ve giyinebilme, basit ev işleri ve 2,5 mph yürüme
Sınıf IV	Kalp yetersizliği semptomları dinlenme sırasında da mevcuttur.	Hasta \geq 2 METS gerektiren aktiviteleri yapamaz.
METS: metabolik equivalents, mph: miles per hour		

2.1.3. Epidemiyoloji ve Etyoloji

Kalp yetmezliği, oldukça yaygın bir hastalık olup sıklığı yaşla birlikte artmaktadır. Genel nüfustaki prevalansı % 0.3-2 arasındadır (19).50-60 yaş arası grupta sıklığı %1-2 iken, 75 yaş üzerinde %10’a ulaşmaktadır. Tüm kalp yetersizliklerinin ortalama %80’i 65 yaş ve üzerindeki kişilerde görülmektedir. Framingham çalışmasına göre; 50-59 yaş arası her 1000 erkekte 3, 1000 kadında 2, 80-89 yaş arası her 1000 erkekte 27, 1000 kadında 22 hastada kalp yetmezliği saptanmıştır ve kadın/erkek oranı 1/3 olarak bulunmuştur (20).

KY’nin etiyojisi ülkeden ülkeye değişiklik gösterebilmektedir. Gelişmiş ülkelerde koroner arter hastalığı ve hipertansiyon, az gelişmiş ülkelerde ise romatizmal

kapak hastalığı, enfeksiyonlar ve beslenme bozuklukları en sık rastlanan nedenler arasında sayılabilir(21). KEF-KY, DEF-KY'ye göre daha farklı etiyolojik ve epidemiyolojik görünüm sergilemektedir (22). KEF-KY'li hastalar, DEF-KY hastalarına göre daha yaşlı, sıklıkla kadın cinsiyette ve genellikle daha obez hastalardır. Bu grup hastada koroner kalp hastalığına daha az, hipertansiyon ve atriyal fibrilasyona (AF) ise daha sık rastlanmaktadır. KEF-KY hastalarının prognozu DEF-KY hastalarına göre daha iyidir (23).

Kalp yetmezliği etyolojisinin belirlenmesi, hastalığın tedavisi ve prognozu açısından önemli bilgiler sağlayacağından son derece önemlidir. Kalp yetmezliği, iskemik, infektif, inflamatuvar, immün, endokrin, metabolik, genetik ve neoplastik nedenlere bağlı, ya da kalbin yetersiz gelişiminden veya gebelik kaynaklı olabilir. Kronik KY, miyokardiyal disfonksiyon, aritmi, kapak hastalıkları, perikart hastalıkları veya aritmiye bağlı olabilir. Akut sol KY'nin en yaygın sebebi akut miyokart infarktüsüdür (AMİ). Hipertansiyon (HT) ve diyabetes mellitus (DM) olasılıkla pek çok olguda katkıda bulunan etmenler olsa da, koroner arter hastalığı (KAH) sistolik KY olgularının yaklaşık üçte ikisinden sorumludur(22).

Tablo 2.3. Kalp yetmezliği etyolojisi

Sık (%95)	Nadir (%5)
İskemik kalp hastalıkları (%40)	Miyokardit, HIV ve diğer enfektif hastalıklar
Kardiyomiyopatiler (%32)	Bağ dokusu hastalıkları
Valvüler (%12)	Amiloidoz ve diğer infiltratif hastalıklar
Hipertansiyon (%11)	Aritmiler
	Endokrin sebepler
	Toksik sebepler
	Böbrek hastalıkları
	Konjenital kalp hastalıkları Diğerleri.
	Diğerleri.

2.1.4. Fizyopatoloji

Kalbin pompalama yeteneğini etkileyen başlıca faktörler; kontraktilite, afterload ve kalp atım hızıdır.

1. Kontraktilite: Kas liflerinin kasılma kuvvet ve hızıdır. Kalbe gelen kan miktarının artması ile kalbin hacmi artınca kalp kası gerilir ve sağ atriyum duvarının gerilmesi kalp hızını doğrudan %10-20 artırarak, dakikada pompalanan kan miktarını artırır. Önyük, diyastol sonu hacmin artmasıyla kalbin atım hacmi ve kasılma gücü artar. Sonuç olarak fizyolojik sınırlar içerisinde, venlerde normalden fazla miktarda kan birikmesine izin vermeyecek şekilde, kalp kendine gelen kanın tamamını pompalar. Bu duruma Frank-Starling mekanizması denir. Ancak bu mekanizma ilerleyen KY' de yetersiz kalır. Duvar geriliminin artması kontraktilitenin azalmasına yol açar. Kalbin maksimum atım hacmi önce efor esnasında sonra da istirahatte azalır. Kalp debisini sağlamak için gereken diyastol sonu basınç, yetersizlik ağırlaştıkça artar. DEF-KY' de sol ventrikül diyastol sonu hacmi artmasına rağmen ejeksiyon fraksiyonu azalır. KEF-KY' de ise sol ventrikül dolumunda azalma olup ejeksiyon fraksiyonu normal değerlerdedir yani kalp atım hacmi ve debisi azalmıştır.

2. Afterload (Ard yük): Maksimum sistolik ventrikül duvar gerilimi olup ventrikül kasılmasına karşı gelişen direnç olarak tanımlanır. Kan basıncına (KB) bağlıdır. Ard yük artarsa kalp atım hacmi azalır.

3. Kalp frekansı (Kronotropi) : Kalp hızı, kontraktilitesi ve duvar gerilimi miyokardiyal oksijen tüketiminin üç major belirleyicisidir. Yetersizlikteki kalbin metabolik gereksinimi, düşük kalp hızında çalışan normal bir ventrikül ile karşılaştırıldığında çok daha yüksektir.

2.1.5. Kalp yetersizliğindeki kompensatuvar mekanizmalar

Kalbin pompalama işlevini sürdürebilmesini sağlayan başlıca kompensasyon mekanizmaları şunlardır: Frank-Starling mekanizması, nörohumoral sistemlerin aktivasyonu, miyokardiyal remodeling (yeniden şekillenme)

Kompensatuvar mekanizmalar sayesinde kalp debisi, kontraktilite, vital organlara kan akımı artar. Ancak renin anjiyotensin sisteminin böbrek glomerül ve tübül

fonksiyonları üzerindeki doğrudan ve dolaylı etkilerinden kaynaklanan su ve tuz tutulumu, taşikardi, ön ve ard yükte artma, miyokardiyal hipertrofi ve dilatasyon, periferik vazokonstriksiyon ve ardyük artışıyla diyastolik duvar geriliminin artması sonucu miyokard enerji tüketiminde artma, aritmiler ve ani ölüm sıklığında artma, kalp yetersizliğine neden olur (24). Sonuç olarak kompensasyon mekanizmaları uzun dönemde olumsuz etkileriyle devamlı miyosit kaybı, ventrikül dilatasyonu, debi düşüklüğü ve sistemik perfüzyon yetersizliği, periferik direncin bozulması ve kalp boşluklarının dolum basınçlarının yükselmesiyle ortaya çıkan konjestif bulgulara, yaşam süresinde kısalmaya ve egzersiz toleransında bozulmaya yol açar. Kronik basınç yüklenmesi önce hipertrofi ile kompanse edilir. Ancak dilatasyon eklendiğinde dekompansasyon başlar. Kronik volüm yüklenmesinde ventrikül dilatasyonu hipertrofidan önce ortaya çıkar. Dilatasyon, ventrikül diyastol sonu basıncının aşırı artmasını önler. Bir süre sonra ventrikül çapının ileri düzeylere ulaşması, aynı aort basıncı karşısında lif kısalması için üretilmesi gereken duvar gerilimini artırır (Laplace kanunu). Volüm yüklenmesi, atım hacmini ve dolayısıyla aort sistolik basıncını arttırıyorsa duvar gerilimi daha da artar ve dilatasyona hipertrofi de eklenir. Ventrikülün dilate olması nedeniyle miyokard kütlesi belirgin olarak artsa da duvar kalınlığında önemli artış olmayabilir. Hipertrofi ventrikül kompliyansını azaltır, konjestif belirtileri arttırır. Başlangıçta ventrikül performansını arttıran bu fizyopatolojik süreç zamanla kardiyak performansta azalmaya ve kalp yetersizliği belirtilerinin ortaya çıkmasına neden olur. Her iki tür yüklenmede de ventrikül dilatasyonunun ve hipertrofisinin birlikte bulunduğu evreler KY' in ilerlediğini gösterir. Ard-yükte (basınç yüklenmesi) veya önyükteki (hacim yüklenmesi) artışlar ventrikülün koniden küresel bir geometriye dönüşmesine neden olur ve bu ventriküler “remodeling” (yeniden şekillenme) olarak isimlendirilir. Ventrikül dilatasyonu ile birlikte “remodeling” papiller kasların pozisyonunda değişiklik, atriyoventriküler halkada genişleme ve kapak yetersizliklerinde artışa neden olur (25).

Sol ventrikül, karotis sinüs ve arkus aortadaki yüksek basınç baro reseptörleri beyin kardiyoregülatuar merkezine afferent uyarı iletmekte ve efferent yollarla sempatik sinir sistemini aktive etmektedir. Sempatik sistem uyarısı ile periferik vazokonstriksiyon meydana gelmekte ayrıca renal sempatik sistem uyarısı ile renin ve anjiyotensin II salınımı olmaktadır. Bu da renin-anjiyotensin-aldosteron sistemini

aktive etmektedir. Anjiyotensin II, vazokontrüksiyona ve adrenal bezden aldosteron sekresyonuna neden olur. Aldosteron da túbüler sodyum reabsorbsiyonuna ve kalp miyositlerinde “remodeling”e neden olmaktadır. Ayrıca supraoptik ve paraventriküler nükleusun sempatik sistemle uyarılması ile arginin-vasopressin salgılanması artmaktadır (25).

2.1.6. Semptom ve Bulgular

KY tanısı, özellikle erken evrelerde, zor olabilmektedir. Semptomlar sıklıkla non spesifiktir veya yoktur. KY belirtilerinin birçoğu özgül değildir. KY ile başka sorunların birbirinden ayırt edilmesine yardımcı olmaz. KY için daha özgül olan belirtiler (örn; ortopne, paroksizmal noktürnal dispne) özellikle hafif belirtileri olan hastalarda daha az sıklıkta görülür bu yüzden de duyarlılığı düşüktür (26).

Sıvı retansiyonuna bağlı belirti ve bulgular diüretik tedaviyle hızlıca çözülür. Yüksek juguler ven basıncı ve kalp tepe vurusunun yer değiştirmesi gibi daha spesifik bulguları tespit etmek daha da güçtür ve bu yüzden tekrarlanabilirliği daha azdır. (27). Belirti ve bulguların saptanması ve yorumlanması yaşlılarda, obez bireylerde ve kronik akciğer hastalığı olanlarda özellikle zor olabilir (28,29). KY bulunan daha genç yaştaki hastalarda genellikle etyoloji, klinik tablo ve prognoz yaşlı hastalardakinden farklıdır(30). Ayrıntılı anamnez mutlaka alınmalıdır. KY ilişkili tıbbi öyküsü (örn. kardiyak hasara neden olabilecek potansiyel nedenler)olmayanlarda oldukça nadirken, özellikle geçirilmiş miyokart infarktüsü gibi uygun bir öykü, uyumlu belirti ve bulguları olan hastalarda, büyük ölçüde kalp yetmezliği olasılığını artırır(31).Belirti ve bulgular, hastanın tedaviye yanıtının gözlenmesinde önem taşır. Tedaviye rağmen belirtilerin devam etmesi genellikle ek tedavilere gereksinim olduğunu gösterirken, belirtilerin kötüleşmesi ciddi bir durumdur ve hızlı tıbbi dikkat gerektirir (14).

Tablo 2.4. Kalp Yetersizliğinin Belirti ve Bulguları

Tipik kalp yetersizliğinin belirtileri ve bulguları	
Belirtiler	Bulgular
Tipik	Daha özgül
Nefes darlığı • Ortopne • Paroksizmal noktürnal dispne • Egzersiz toleransında azalma • Halsizlik, yorgunluk, egzersiz sonrası toparlanma süresinin uzaması • Ayak bileği şişliği	Jügüler ven basıncında artış • Hepatojügüler reflü • Üçüncü kalp sesi (gallop ritmi) • Kalp tepe vuruşunun sola kayması
Daha az tipik	Daha az özgül
Gece gelen öksürük • Hışıltı (wheezing) • İştahsızlık • Konfüzyon (özellikle yaşlılarda) • Depresyon • Çarpıntı • Baş dönmesi • Senkop • Bendopne	Kilo artışı (>2 kg/hafta) • Kilo kaybı (ileri KY' de) • Doku kaybı (kaşeksi) • Kalp seslerinde üfürüm • Periferik ödem (ayak bileği, sakral, skrotal) • Akciğerlerde krepitasyon • Akciğerlerde havalanma azlığı ve akciğer bazallerinde perküsyonda matite alınması (plevral efüzyon) • Taşikardi • Düzensiz nabız • Takipne • Cheyne Stokes solunumu • Hepatomegali • Asit • Soğuk ekstremiteler • Oligüri • Düşük nabız basıncı

2.1.7. Temel Başlangıç İncelemeleri

2.1.7.1. Natriüretik Peptitler, Elektrokardiyogram ve Ekokardiyografi

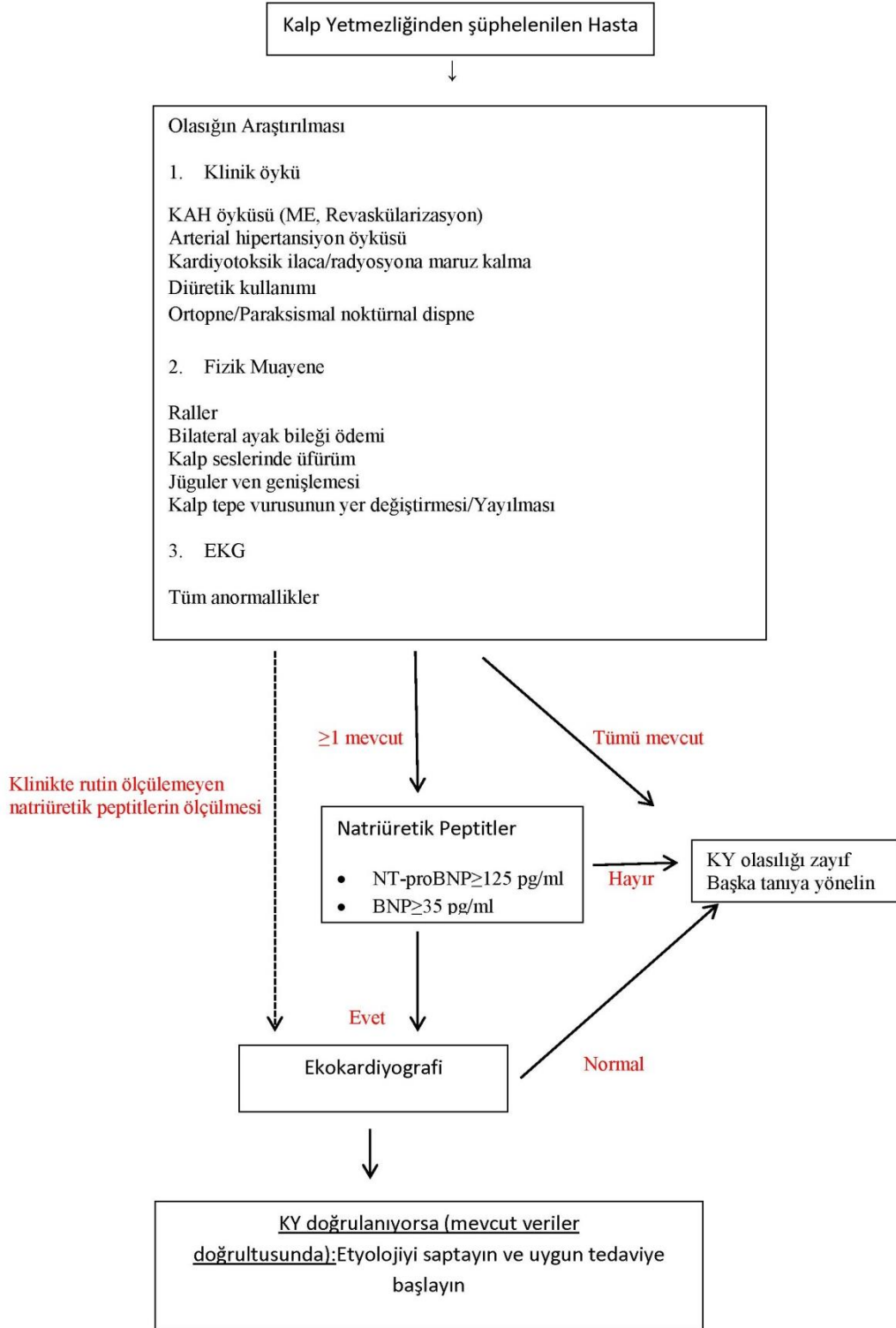
Natriüretik peptitlerin (NP) plazma konsantrasyonu başlangıç testi olarak kullanılabilir. Normal plazma natriüretik peptit seviyesi olan hastalarda kalp yetmezliği olasılığı zayıftır. Akut başlangıçlı olmayan kalp yetmezliğinde normalin üst sınırı BNP(B tipi natriüretik peptit) için 35 pg/ml ve NT-proBNP (N-terminal pro-BNP) için 125 pg/ml dir. NP düzeyi ölçümünün, KY tanısını koymak için değil, dışlamak için yapılması önerilir(33). NP düzeylerinin yükseldiği kardiyovasküler ve kardiyovasküler olmayan durumlar KY deki artışın yorumlanmasını güçleştirebilir. Atriyal fibrilasyon, yaş ve böbrek yetmezliği NP ölçümlerinin yorumlanmasını engelleyen en önemli faktörlerdir (34). Öte yandan natriüretik peptit seviyeleri yaşla birlikte artar ve obez kişilerde düşük olabilir (35).

Anormal bir elektrokardiyogram KY teşhisinde olasılığı artırır ancak özgüllüğü düşüktür (36). EKG, sinoatriyal hastalık, atriyoventriküler blok veya anormal intraventriküler ileti gibi kalp ritmini ve elektriksel iletiyi gösterir. Bu bulgular tedavi

ile ilgili kararlar için de önemlidir. (Örn. AF için hız kontrolü ve antikoagülasyon, bradikardi için pacing veya sol dal bloğu (LBBB) olan hastalar için kardiyak resenkronizasyon tedavisi(CRT)). EKG aynı zamanda, sol ventrikül hipertrofinin kanıtlarını ya da Q dalgalarını (canlı miyokard kaybına işaret eder) göstererek KY etyolojisine yönelik bilgi sağlayabilir.Tamamen normal bir EKG ile başvuran hastada KY olasılığı düşüktür (Duyarlılık% 89). Bu nedenle KY 'yi dışlamada EKG nin rutin kullanımı önerilir(37).

Ekokardiyografi, KY' den şüphelenilen hastalarda tanı koymak için en yararlı, en yaygın kullanılan testtir. Ekokardiyografi ventriküler sistolik ve diyastolik fonksiyonları, duvar kalınlığı, kapak fonksiyonu ve pulmoner hipertansiyon hakkında bilgi sağlar. Bu bilgi tanı konulması ve uygun tedavinin belirlenmesinde önemlidir. Dikkatli klinik değerlendirme ve belirtilen testlerle sağlanan bilgiler, hastaların çoğunda başlangıç tanı ve tedavi planına olanak tanır. Diğer testler tanı kesin olarak bilinmiyorsa gereklidir (38).

Tablo 2.5. Akut olmayan başlangıç gösteren kalp yetersizliğine yönelik tanı algoritması



2.1.8. Tedavi

KY'li hastalarda tedavinin amacı, klinik durumu, fonksiyonel kapasiteyi ve yaşam kalitesini iyileştirmek, hastaneye yatışı engellemek ve mortaliteyi azaltmaktır. Mortalite ve hastaneye başvuru hızlarındaki azalmanın her ikisi de, etkili tedavilerin KY' nin ilerleyici kötüleşmesini önleme veya azaltma başarısını yansıtmaktadır. Bu durum, sıklıkla sol ventrikülde yeniden şekillenme ve dolaşan natriüretikpeptid konsantrasyonunda azalma ile beraberdir (39).

KY'de tedavi farmakolojik ve nonfarmakolojik yaklaşımları içeren çok yönlü bir tedavi olmalıdır. Kendine bakım, fiziksel stabiliteyi sürdürme, tabloyu ağırlaştırarak davranışlardan kaçınma ve ağırlaşmaya işaret eden erken semptomları tanıma hedef olarak tanımlanabilir. Diyet, kilo takibi, fiziksel aktivitelerin düzenlenmesi, hasta ve yakınlarının eğitimi ile yakın takip farmakolojik olmayan yaklaşımlardandır. Farmakolojik tedavinin amacı, öncelikle kalp yetmezliğini önlemektir. Anjiyotensin dönüştürücü enzim inhibitörleri (ACEİ), beta-blokerler, diüretikler, digoksin ve aldosteron antogonistleri kılavuzlarca önerilen kronik KY tedavisinde kullanılan ilaçlardır(40). Ayrıca etiyolojik sebeplere göre yaklaşım da tedavinin bir parçasıdır.

2.1.8.1.Düşük Ejeksiyon Fraksiyonlu Kalp Yetmezliği Olan Semptomatik Hastaların Hepsinde Önerilen Tedaviler

2.1.8.1.1. Anjiyotensin Dönüştürücü Enzim İnhibitörleri

Anjiyotensin dönüştürücü enzim inhibitörlerinin (ACEİ) , DEF-KY 'li hastalarda mortalite ve morbiditeyi azalttığı gösterilmiştir ve tüm semptomatik hastalarda kontraendike olmadıkça önerilir. ACEİ'ler, renin - anjiyotensin - aldosteron sisteminin yeterli inhibisyonunu sağlamak için maksimum tolere edilebilen doza artırılmalıdır. Klinik uygulamada hastaların çoğunun optimal olmayan ACEİ dozları aldığına dair kanıt bulunmaktadır (41). ACEİ' ler asemptomatik sol ventrikül sistolik disfonksiyonu olan hastalarda, KY gelişimi, hastaneye yatma ve ölüm riskini azaltmak için de önerilir. Bir beta blokerin yanı sıra DEF-KY 'li semptomatik hastalar için KY nedeniyle hastaneye yatma ve ölüm riskini azaltmak için bir ACEİ önerilir (41).

2.1.8.1.2. Beta Blokerler

Beta blokerler, ACEİ ve çoğu durumda bir diüretik tedavisine rağmen DEF-KY 'li semptomatik hastalarda mortalite ve morbiditeyi azaltır, ancak konjestif veya dekompanse hastalarda test edilmemiştir (14). Beta-bloker'lerin ve ACEİ'lerin tamamlayıcı olduğu konusunda fikir birliği vardır ve DEF-KY tanısı konduktan sonra birlikte başlanabilir. ACEİ başlatılmadan önce beta bloker tedavisinin başlanmasını destekleyen hiçbir kanıt bulunmamaktadır(14). Beta-blokerler klinik olarak stabil olan hastalarda düşük dozda başlanmalı ve maksimum tolere edilen doza kadar kademeli olarak titre edilmelidir. Akut KY nedeniyle yatırılan hastalarda beta-blokerler dikkatli bir şekilde hasta stabilize olduktan sonra başlanmalıdır. DEF-KY 'deki tüm önemli beta-bloker çalışmalarının bireysel hasta verileri meta-analizi, atriyal fibrilasyon (AF)' de olan DEF-KY 'li hasta alt grubunda hastaneye yatış ve mortalitede hiçbir fayda sağlamadığını göstermiştir (42).Bununla birlikte, bu retrospektif bir alt grup analizi olduğundan ve beta blokerler riski artırmadığı için, rehber komite kalp ritmine göre ayrı bir öneri yapmamaya karar vermiştir. DEF-KY ve AF'li hastalarda, özellikle kalp atış hızı yüksek olanlarda hız kontrolünde beta blokerler düşünülmelidir. Miyokard infarktüsü öyküsü olan ve asemptomatik LV sistolik disfonksiyonu olan hastalarda beta-blokerler, ölüm riskini azaltmak için önerilir (42).

2.1.8.1.3. Mineralokortikoid / Aldosteron Reseptör Antagonistleri

MRA'lar (spironolakton ve eplerenon), aldosteronu bağlayan ve farklı derecelerde afiniteyle diğer steroid hormon (ör. Kortikosteroidler, androjenler) reseptörlerini bloke eden farmakolojik ajanlardır. Spironolakton veya eplerenon, LVEF \leq %35 olan tüm semptomatik hastalarda (bir ACEİ ve bir beta bloker tedavisine rağmen) mortaliteyi ve KY'e bağlı hastaneye yatış oranını azaltmak için önerilir. Böbrek fonksiyonlarında bozukluk bulunan hastalarda ve serum potasyum seviyesi 5.0 mmol/L olanlarda MRA kullanıldığında dikkatli olunmalıdır. Serum potasyum düzeyleri ve renal fonksiyonların düzenli olarak kontrol edilmesi klinik duruma göre yapılmalıdır(43).

2.1.9. Düşük Ejeksiyon Fraksiyonlu Kalp Yetmezliği Olan Semptomatik Hastalarda Önerilen Diğer Tedaviler

2.1.8.2.1. Diüretikler

DEF-KY 'li hastalarda konjesyonun belirtilerini ve semptomlarını azaltmak için diüretiklerin kullanılması önerilir, ancak mortalite ve morbiditeye etkileri randomize klinik çalışmalarda (RKÇ) incelenmemiştir. Bir Cochrane meta-analizi, kronik KY'li hastalarda, loop ve tiazid diüretiklerinin, plaseboya kıyasla ölüm riskini ve KY'nin kötüleşmesini azalttığı ve etkin bir kontrolle karşılaştırıldığında, diüretiklerin egzersiz kapasitesini geliştirdiğini göstermiştir(44). Loop diüretikleri tiazidlere kıyasla daha yoğun ve daha kısa diürez üretirler, ancak sinerjik hareket ederler ve kombinasyon dirençli ödem tedavisinde kullanılabilir. Bununla birlikte, yan etkiler daha olasıdır ve bu kombinasyonlar dikkatle kullanılmalıdır. Diüretik tedavinin amacı ulaşılabilir en düşük doz ile övolemiyi elde etmek ve devam ettirmektir. Diüretik dozu zaman içinde bireysel ihtiyaçlara göre ayarlanmalıdır. Seçilmiş asemptomatik övolemik / hipovolemik hastalarda, diüretik kullanımı (geçici olarak) kesilebilir. Hastalar, konjesyon belirtilerinin ve günlük ağırlık ölçümlerinin izlenmesine dayanılarak diüretik dozlarını kendi kendine ayarlayacak şekilde eğitilebilir (44).

2.1.8.2.2. Anjiyotensin Reseptörü Neprilisin İnhibitörü

RAAS ve nötr endopeptidaz sistemi üzerinde etkili olan yeni bir tedavi edici sınıf geliştirilmiştir. LCZ696, valsartan ve sakubitril (neprilisin inhibitörü) parçalarını tek bir maddede birleştiren sınıftaki ilk moleküldür. Neprilisin inhibisyonuyla, natriüretik peptidler, bradikinin ve diğer peptidlerin bozunması yavaşlar. Dolaşımdaki yüksek A-tipi natriüretik peptid (ANP) ve BNP, NP ve siklik guanozin monofosfat (CGMP) reseptörlerine bağlanarak etki gösterir. Böylelikle diürez, natriürez ve miyokardiyal gevşemeyi ve anti-remodelingi artırır. ANP ve BNP de renin ve aldosteron salınımını inhibe eder. Selektif AT1 reseptör blokajı, vazokonstriksiyon, sodyum ve su tutulumu ve miyokard hipertrofisini engeller (45). Yakın tarihli bir araştırma, ambulatuvar hastalarda ACEI (enalapril) ile sakubitril / valsartanın morbidite ve mortalite üzerine uzun vadeli etkilerini araştırdı. Bu popülasyonda, sakubitril / valsartan (97/103 mg), kardiyovasküler mortalite ve genel mortaliteyi azaltmada,

kötüleşen kalp yetmezliğine bağlı hastaneye yatışların azaltılmasında ACEI'den (enalapril 10 mg) daha üstündü (46). Bu nedenle, bu profile uyan DEF-KY hastalarında sakubitril / valsartan önerilmektedir. PARADIGM-HF çalışmasında enalapril üzerindeki sakubitril / valsartanın üstünlüğüne rağmen, klinik uygulamada bu ilaçla tedaviye başlarken bazı güvenlik konuları hala devam etmektedir. Semptomatik hipotansiyon, sakubitril / valsartan grubunda daha sık bulunmuştur (75 yaş ve üzeri olanlar, sakubitril / valsartan grubunda %18, enalapril grubunda %12 etkilenmiştir), ancak ilacı kesmede artış görülmemiştir(46). Çakışan ACE ve neprilisin inhibisyonuna bağlı anjiyoödem riskini en aza indirmek için ACEI, sakubitril / valsartan başlatılmadan önce en az 36 saat önceden kesilmelidir. ACEI (veya ARB) ve sakubitril / valsartan ile kombine tedavi kontraendikedir. Beyindeki beta-amiloid peptidinin bozunması üzerindeki etkileri hakkında endişeler vardır, bu da teorik olarak amiloid birikimini hızlandırabilir (47).

2.1.8.2.3. If-Kanal İnhibitörü

İvabradin, sinüs düğümünde If kanalının inhibisyonu yoluyla kalp atış hızını yavaşlatır ve bu nedenle sadece sinüs ritmindeki hastalar için kullanılmalıdır. İvabradin semptomatik DEF-KY ve LVEF \leq % 35sinüs ritminde ve kalp hızı \geq 70 atım /dk olan ve bir beta bloker (maksimum tolere edilen doz), bir ACEI veya ARB ve bir MRA ile tedavi alan, önceki 12 ay içinde KY nedeniyle hastaneye yatırılmış hastalarda KY nedeniyle hastaneye yatışları ve mortaliteyi azaltmıştır (48).

2.1.8.2.4. Anjiyotensin II Tip I Reseptör Bloke Edicileri

ARB'ler yalnızca ACEI' nı tolere edemeyen hastalarda alternatif olarak önerilir(49).Kandesartanın kardiyovasküler mortaliteyi azalttığı gösterilmiştir. Valsartan ise DEF-KY 'li hastalarda KY için hastaneye yatışı azaltmıştır. ACEI/ ARB kombinasyonu, MRA' yı tolere edemeyen beta bloker alan semptomatik DEF-KY hastaları ile sınırlı olmalıdır ve sıkı gözetim altında kullanılmalıdır (14).

2.1.8.2.5. Hidralazin Ve İzosorbid Dinitrat Kombinasyonu

DEF-KY olan tüm hastalarda sabit doz kombinasyon tedavisinin kullanımını önermek için açık bir kanıt bulunmamaktadır. Siyah hastalarda yapılan ardışık, randomize klinik çalışma, DEF-KY ve NYHA Sınıf III-IV hastalarda, geleneksel tedaviye (ACEI, beta-bloker ve MRA) hidralazin ve izosorbid dinitrat

kombinasyonunun eklenmesinin mortaliteyi ve KY nedeniyle hastaneye yatış oranını azalttığını gösterdi(50).Buna ek olarak, hidralazin ve izosorbit dinitrat kombinasyonu mortaliteyi azaltmak için ACEI veya ARB tolere edemeyen (veya kontraendike ise) semptomatik DEF-KY olan hastalarda düşünülebilir(14).

2.1.8.3Düşük Ejeksiyon Fraksiyonlu Kalp Yetmezliği Olan Semptomatik Hastalarda Daha Az Faydaya Sahip Diğer Tedaviler

2.1.8.3.1 Digoksin Ve Diğer Dijital Glikozitler

Digoksin, semptomatik DEF-KY ile sinüs ritmindeki hastalarda hastaneye yatışı azaltmak için verilebilir. (hem tüm nedenli hem de KY yatışları) (14). DEF-KY ve AF'li hastalarda digoksin etkisi RKÇ'de araştırılmamıştır. Son çalışmalar, digoksin alan AF'li hastalarda potansiyel olarak daha yüksek olay riski(mortalite ve kalp yetmezliğine bağlı hastaneye yatış) olduğunu ileri sürdü (51).Bununla birlikte, başka bir meta-analiz, RKÇ'ler temelinde, digoksinin DEF-KY 'ye sahip AF 'li hastalarda mortalite üzerinde herhangi bir zararlı etkiye sahip olmadığı sonucuna varmıştır (52). Semptomatik KY ve AF'li hastalarda digoksin, hızlı ventriküler hızı yavaşlatmak için yararlı olabilir (53). KY ve AF'li hastalar için optimal ventriküler hız belirlenmemiştir. Mevcut kanıtlar sıkı oran kontrolünün zararlı olabileceğini önermektedir. Mevcut görüşlere dayanarak, 70-90 atım/dk aralığında bir dinlenme ventrikül hızı önerilir, ancak 110 atım/dk kadar dinlenme ventriküler hızının hala kabul edilebilir olabileceği önerilmektedir(14).

2.1.8.3.2 N-3 Çoklu Doymamış Yağ Asitleri

N-3 çoklu doymamış yağ asitleri büyük bir RKÇ'de küçük bir tedavi etkisi göstermiştir. Preparatlarının bileşimi ve dozu farklıdır. Sadece en az% 85 (850 mg / g) etil ester olarak eikosapentaenoik asit ve dokosaheksaenoik asit içeren preparatlar, kardiyovasküler ölümün ve hastaneye yatışın kümülatif son noktası üzerinde bir etki göstermiştir. DEF-KY 'de veya miyokart infarktüsünden sonra 850 mg / g dan daha az N-3 çoklu doymamış yağ asitleri içeren preparatların hiçbir etkisi gösterilmemiştir. 850 - 882 mg eikosapentaenoik asit ve 1: 1.2oranındaki etil ester olarak dokosaheksaenoik asit içeren N-3 çoklu doymamış yağ asitleri müstahzarları, halihazırda bir ACEI (veya

ARB) beta bloker ve MRA ile optimize edilmiş tedavi alan semptomatik DEF-KY'li hastalarda yardımcı tedavi olarak düşünülebilir (14).

2.1.8.4Düşük Ejeksiyon Fraksiyonlu Kalp Yetmezliği Olan Semptomatik Hastalarda Önerilmeyen Tedaviler (Kanıtlanmamış Fayda)

2.1.8.4.1.3-Hidroksi 3 Metilglutaril-Koenzim-a Redüktaz İnhibitörleri (Statinler)

Aterosklerotik hastalığı olan hastalarda mortalite ve morbiditeyi azaltmasına rağmen, statinler DEF-KY 'li hastalarda prognozu iyileştirmede etkili değildir. Kronik KY'li hastalarda statin tedavisinin etkisini araştıran iki büyük çalışmada herhangi bir fayda bulunamamıştır (14). Bu nedenle, kanıtlar kronik KY'li çoğu hastada statinlerin başlatılmasını desteklemez. Ancak halihazırda altta yatan KAH ve / veya hiperlipidemi nedeniyle statin alan hastalarda tedavinin devamı düşünülmelidir (14).

2.1.8.4.2. Oral Antikoagülanlar Ve Antitrombosit Tedavi

AF'li (hem DEF-KY hem de KEF-KY) hastalar dışında, oral antikoagülanın plasebo veya aspirine kıyasla mortalite / morbiditeyi azalttığına dair bir kanıt bulunmamaktadır. DEF-KY'li hastalarda non-vitamin K antagonisti oral antikoagülanları (NOAC) test eden çalışmalar halen devam etmektedir. Eşzamanlı AF veya venöz tromboemboli riski nedeniyle oral antikoagülasyon tedavisi gören DEF-KY hastalarında antikoagülasyon devam etmelidir. Benzer şekilde, KY'li hastalarda antiplatelet ilaçların (asetilsalisilik asit dahil) yararları hakkında hiçbir kanıt bulunmamakla birlikte, özellikle bu tedaviyle ilişkili olarak yaşlı hastalarda gastrointestinal kanama riski büyüktür (54).

2.1.8.4.3. Renin İnhibitörleri

Aliskiren (direkt renin inhibitörü), bir çalışmada 6 ayda veya 12 ayda KY nedeniyle hastaneye kaldırılan hastaların sonuçlarını iyileştirmekte başarısız olmuştur ve halen ACEI veya ARB'ye alternatif olarak önerilmemektedir (14).

2.1.8.5.Düşük Ejeksiyon Fraksiyonlu Kalp Yetmezliğinin Cerrahi Dışı Tedavisi

2.1.8.5.1. İmplant Edilebilir Kardiyoverter Defibrilatör (ICD)

KY'li hastalarda, özellikle semptomları hafif olan kişilerde ölümlerin büyük bir kısmı aniden ve beklenmedik bir şekilde gerçekleşir. Bunların bazıları koroner, serebral veya aortik vasküler olaylara bağlı olmasına rağmen, birçoğu ventriküler aritmiler, bradikardi ve asistol gibi elektrik bozukluklarından kaynaklanmaktadır. Kardiyovasküler hastalığın ilerlemesini engelleyen veya geciktiren tedaviler, yıllık ani ölüm oranını düşürecektir, ancak ömür boyu risk üzerinde çok az etki yapabilir ve ortaya çıktıklarında aritmik olayları tedavi etmeyecektir. ICD'ler bradikardinin önlenmesinde ve öldürücü ventriküler aritmilerin düzeltilmesinde etkilidir. Bazı antiaritmik ilaçlar taşiaritmi ve ani ölüm oranını düşürebilir, ancak genel mortaliteyi düşürmez ve arttırabilir (14).

2.1.8.5.2. Ani Kardiyak Ölümün İkincil Olarak Önlenmesi

ICD'ler amiodaron tedavisi ile karşılaştırıldığında, kardiyak arrestten sonra hayatta kalan ve devam eden semptomatik ventriküler aritmileri olan hastalarda mortaliteyi azaltır. İmplantasyon kararı, hastanın görüşünü ve yaşam kalitesini, LVEF(LVEF>%35 olan hastalarda sağ kalıma katkısı kesin değil) ve bir sonraki yıl içerisinde ölümle sonuçlanma olasılığı bulunan diğer hastalıkların varlığını hesaba katmalıdır (14).

2.1.8.5.3. Ani Kalp Ölümünün Birincil Olarak Önlenmesi

ICD, DEF-KY'li hastalarda ani aritmik ölüm oranını düşürür. ICD hafif KY (NYHA II) olan hastalarda, implante edilen her 100 cihaz için yılda yaklaşık iki ölüme engel olur. Uzun QRS süresine sahip hastalar ICD' den daha fazla fayda sağlayabilir ancak bu hastalara sıklıkla CRT önerilir. ICD implantasyonu ancak, optimal tıbbi tedavinin yeterli denenmesinin (minimum 3 ay) LVEF'yi >% 35'e çıkarmamasında önerilir. QRS süresi> 130 ms olan hastalar için ICD'den ziyade CRT'ye (CRT-D) sahip bir defibrilatör düşünülmelidir (14).

ICD tedavisi, CRT, ventriküler yardımcı cihaz veya kardiyak transplantasyon için aday olmayan farmakolojik tedaviye dirençli ciddi semptomları olan NYHA sınıf

IV hastalarında önerilmemektedir çünkü bu tür hastaların yaşam beklentileri çok sınırlıdır ve muhtemelen pompa yetersizliğinden ölürlür. Ciddi komorbiditeleri olan ve 1 yıldan daha uzun süre hayatta kalma olasılığı düşük olan hastaların, ICD'den önemli fayda sağlama olasılığı düşüktür. (55)

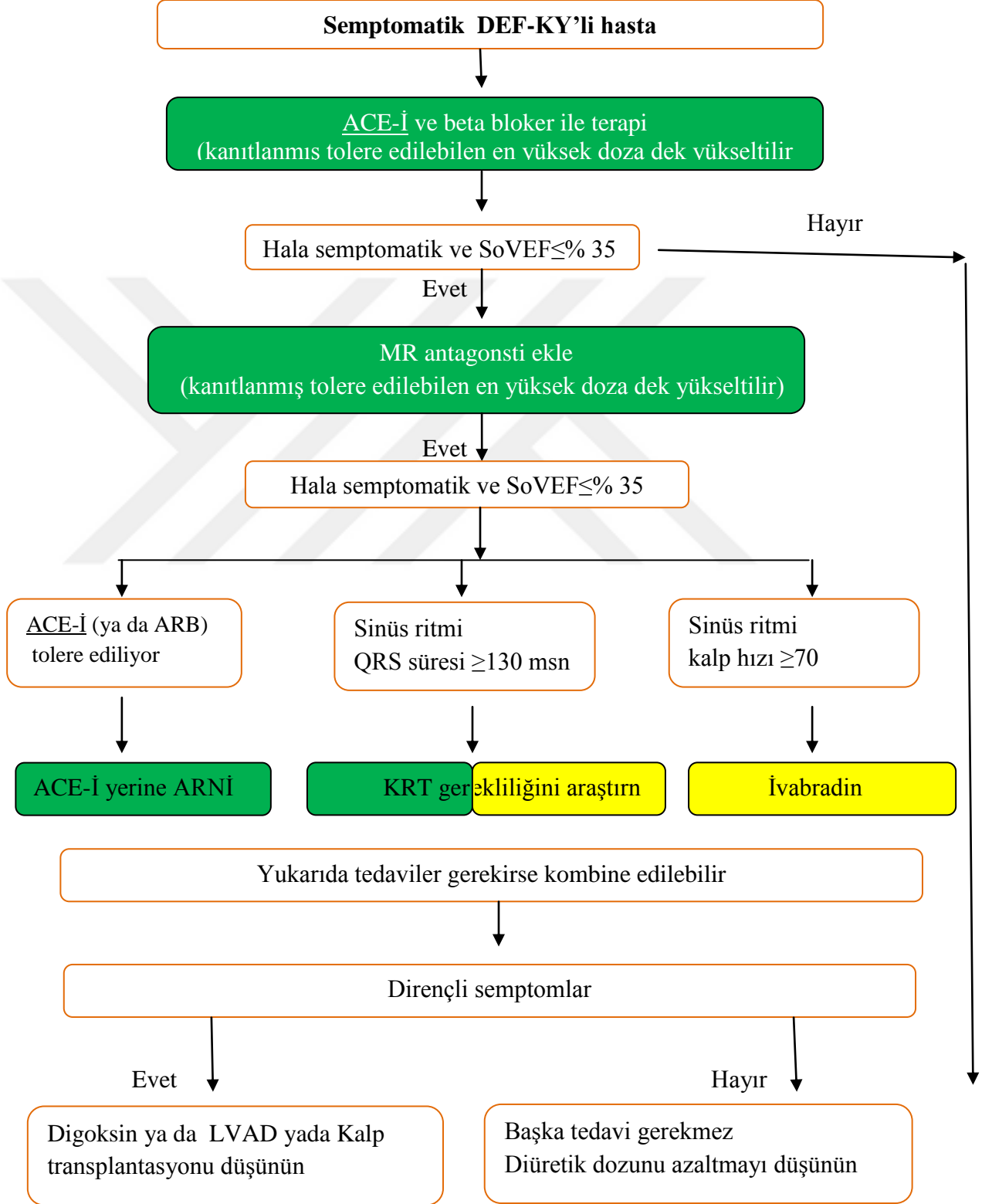
2.1.8.5.4. Kardiyak Resenkronizasyon Terapisi (CRT)

CRT, uygun seçilmiş hastalarda kardiyak performansı artırır ve semptomları iyileştirir ve morbidite ve mortaliteyi azaltır. CRT, semptomları iyileştirmek ve morbidite ve mortaliteyi azaltmak için, QRS ≥ 150 ms ve LBBB QRS morfolojisi ve optimal medikal tedaviye rağmen LVEF ≤ 35 olan semptomatik, sinüs ritmindeki hastalar için önerilir. (sınıf 1a) CRT, semptomları iyileştirmek ve morbidite ve mortaliteyi azaltmak için, sinüs ritminde, 130-149 ms QRS süresi ve LBBB QRS morfolojisi ve optimal medikal tedaviye rağmen SVEF ≤ 35 olan semptomatik hastalar için önerilir.

Tablo 2.6. Kalp yetmezliği tedavi algoritması

SINIF I

SINIF II A



Diüretiklerle konjesyon belirtisi ve bulguları giderilir.

OMT'ye karşı SoVEF ≤ %35 ise ya da semptomatik VT/VF varsa IKD implante edilir.

2.2. Renin Anjiotensin Sistemi

Renin Anjiyotensin Sistemi (RAS) vücut sıvı ve elektrolit dengesi ve arteryel kan basıncını etkileyerek kardiyovasküler, renal ve adrenal fonksiyonları düzenler. RAS, kardiyovasküler sistemin fizyolojik ve patolojik cevaplarında sistemik hipertansiyon ve konjestif kalp yetmezliğinin patofizyolojisinde yer alan çok önemli bir parçadır. RAS genellikle düşük kan basıncı veya doku hasarı durumunda aktive olur. Yara iyileşmesi ve doku onarımı sırasında yerel Ang II üretimindeki artışın bu onarımın bir parçası olduğu düşünülmektedir (56).

2.2.1. Kalp Yetersizliği Fizyopatolojisinde Renin Anjiotensin Aldosteron Sisteminin Yeri

Kalp yetersizliğinde adrenerjik sinir sistemi ve renin anjiotensin aldosteron sistemi birer dengeleyici mekanizma olarak etkinleşir. RAAS etkinleşmesi erken dönemde tuz ve su tutulumunu artırır. Periferik arterlerde vazokonstriksiyona yol açar, miyokardın kasılma gücünü geçici olarak iyileştirir ve kalbin onarım sürecine katkıda bulunur. Böylece kalp debisi normal sınırlarda tutulur. Etkinleşme kronikleşirse kalp-dolaşım sistemi üzerinde yıkıcı etkilere yol açarak kalbin yeniden biçimlenmesine (remodelling), kalp yetersizliğinin ilerlemesine ve kötüleşmesine neden olur (57).

Kalp yetersizliğinde böbrek kan akımının azalması ve sempatik sistem uyarısının artması nedeniyle jukstaglomerular yapılardan yüksek düzeyde renin salgılanır. Renin karaciğerde ve dokularda sentezlenen anjiotensinojeni biyolojik olarak etkin olmayan anjiotensin I' e dönüştürür. Anjiyotensin dönüştürücü enzim (ACE) ise anjiyotensin I' i biyolojik olarak etkin olan anjiyotensin II ye dönüştürür. Kalp yetersizliği olgularında etyolojiden bağımsız olarak, anjiyotensinojen ve ACE mRNA düzeylerinin arttığı gözlemlenmiştir (57).

2.2.2. AII ve Reseptörleri

AII, RAS'ın ana mediyatörüdür. Sadece dolaşımda bulunan bir hormon olmayıp, beyin, kalp, böbrek ve kan damarları gibi pek çok dokuda da üretilir ve böbrek üstü bezleri, böbrekler, beyin, hipofiz bezi, damar düz kasları ve sempatik sinir sistemi gibi dokularla etkileşir. Böylece, AII hem parakrin hem de otokrin hormon görevi yapar.

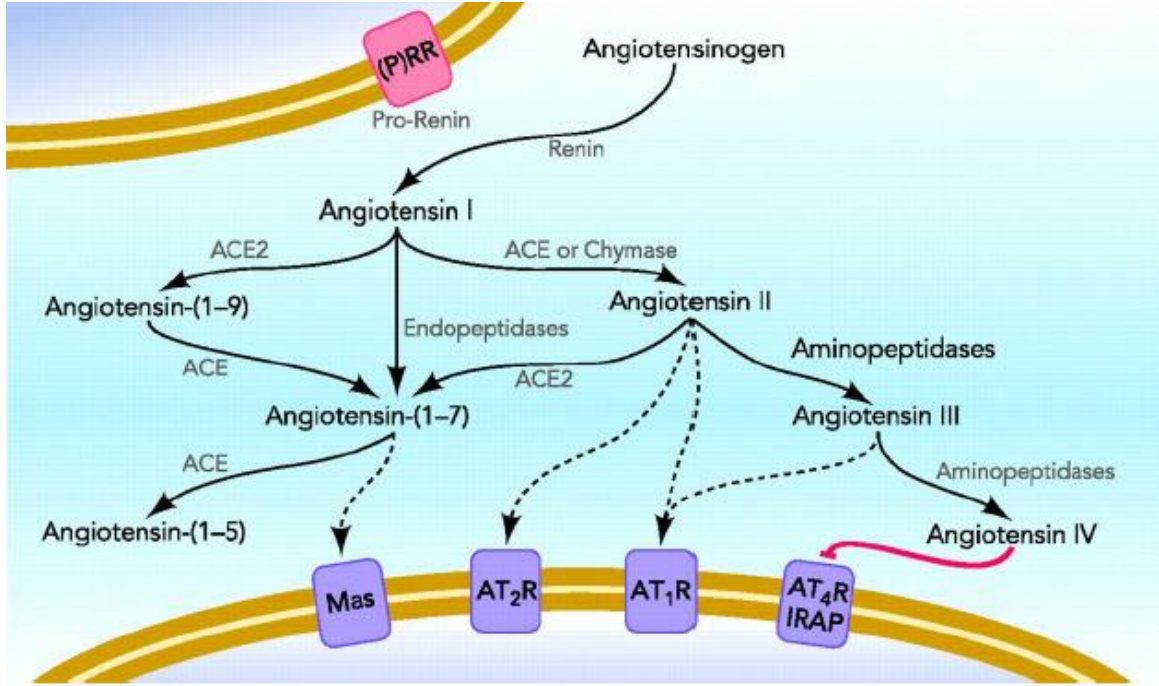
Diğer peptid hormonlar gibi AII de hedef hücrelerin plazma membranlarında yerleşik bulunan reseptörler aracılığı ile etki eder (56).

Anjiyotensin ve peptid metabolitleri farklı biyolojik aktivitelerini göstermek için farklı reseptörler kullanır. Bunlar Anjiyotensin II tip 1 reseptör (AT1R), anjiyotensin II tip 2 reseptör (AT2R), anjiyotensin II tip 4 reseptör (AT4R) ve Mas reseptörleridir. Çoğu durumda, bu peptidlerin Ang II'nin klasik etkilerinin aksine böbrek ve kardiyovasküler etkileri uyardığı gösterilmiştir(58). Bugüne kadar yapılan çalışmalar, AT1R ve AT2R'nin, her iki reseptöre de yüksek ve eşit afinite ile bağlandığı Ang II'ye ait reseptörler olduğunu göstermiştir. Aynı G-protein bağlı reseptör ailesine ait olmasına rağmen, AT1R ve AT2R alt türleri arasında sadece yaklaşık% 34 dizi benzerliği vardır. Öte yandan, Ang (1-7) ve Ang IV'ün etkilerine Mas reseptörü ve AT4R' ü aracılık etmektedir(59).

İlginç olarak, aynı kökenli reseptörlerin yanı sıra, sayısız çalışma, endojen anjiyotensin peptidlerinin diğer anjiyotensin reseptörleri ile etkileşebileceğini göstermiştir. Aslında, Ang (1-7) ve Ang IV'ün etkilerinin AT2R aracılı olduğu gösterilmiştir (60). Ang III' ün, renal ve koroner damarlarda endojen AT2R agonisti olduğuna dair artan kanıtlar vardır (56).

Ang (1-7), Ang IV ve Ang III, AT1R için sınırlı afiniteye sahip olmasına rağmen, bu anjiyotensin peptidleri, AngII ile karşılaştırıldığında AT2R'ye ılımlı bir afinite sergilemektedir. Endojen anjiyotensin peptidlerinin AT2R'ye afinite sırası Ang II ≥ Ang III > Ang IV > Ang (1-7) olarak bulunmuştur(61).

Anjiyotensin II vasküler Nikotinamid adenin dinükleotid fosfat hidrogenaz (NADPH) oksidazın kuvvetli bir aktivatörüdür ve reaktif oksijen türlerinin (ROS) üretimini artırır (61). AII aynı zamanda endotel hücrelerindeki ksantin oksidaz'ı uyarır, bu da AII' ye yanıt olarak endoteldeki oksidatif strese neden olur. Yakın zamanda yapılan bir çalışma AII'nin, NAD(P)H aktivasyonuna ve RhoA/Rho-kinaz yolağının uyarılmasına sebep olarak damar tonusuna katkıda bulunduğunu göstermiştir.(62)



Şekil 2.1. Renin-angiotensin sistemi ve anjiotensin reseptörleri

2.2.2.1. AT1 reseptörü

AII kardiyovasküler, nöronal, renal, endokrin ve hepatik sistem üzerindeki fizyolojik etkilerinin hemen hemen tamamını AT1 reseptörünün aracılığıyla gerçekleştirir. AT1R'nin; sıvı elektrolit dengesini korumak, kan basıncını düzenlemek ve sempatik iletimi ve hücre proliferasyonunu arttırmak da dahil olmak üzere öncelikle Ang II'nin biyolojik fonksiyonlarına aracılık ettiği gösterilmiştir. AT1 reseptörü; kalp, böbrek, vasküler düz kas hücreleri, beyin, adrenal bez, plateletler, yağ dokusu ve plasentada yerleşmiştir. AT1 reseptörlerinin etkileri; vazokonstriksiyon, renin sekresyonunun baskılanması, Na⁺ alımının artışı, vazopressin salınımının artırılması, sempatik aktivasyon, miyositlerde hipertrofi, miyokardiyal kasılmanın artırılması, vasküler ve kardiyak fibrozis, aritmiler, plazminojen aktivatör inhibitör 1'in uyarılması olarak özetlenmektedir. Son zamanlardaki çalışmalarda AII'nin, yerel olarak aktif bir büyüme hormonu olduğu ve AT1 reseptörleri aracılığı ile hücrel hipertrofi, fibrozis patobiyolojisinde rol aldığı bildirilmiştir (63).

2.2.2.2. AT2 Reseptörü

AT2R, GPCR'lerin rhodopsin alt sınıfına aittir ve 363 amino asitten oluşur(21).AT2 reseptörünün fetal mezenkimal dokularda yüksek seviyede bulunması onun organ gelişimi ve hücrel farklılaşmada önemli rolü olduğunu düşündürmektedir (64).

AT2R ekspresyonunun doğumdan sonra birçok dokuda hızlı bir şekilde düşüş gösterdiği bilinse de, reseptör, kalp, böbreküstü bezi, böbrek, beyin ve üreme dokuları da dahil olmak üzere yetişkin dokularında düşük miktarda bulunur (65).Şimdiye kadar yapılmış çalışmalar AII' nin kardiyovasküler sistemdeki pek çok etkisini AT1 reseptörü üzerinden gerçekleştiğini göstermiştir. AT2 reseptörünün katkısı ise fazla bilinmemektedir. Yapılan çalışmalar AT2 reseptörünün, AT1' e antagonistik etkisinin olduğunu göstermektedir. AT2 reseptörü; AT1' e zıt olarak, büyümeyi inhibe edici, antihipertrofik ve proapoptotik özellikler taşımaktadır (66). Yakın zamandaki hücre kültürü çalışmaları AT2 reseptör uyarımının, neonatal sıçan kardiyomiyositlerinde ve fibroblastlarda AT1 reseptör uyarımıyla oluşan büyümeyi inhibe ettiğini göstermiştir. AT2 reseptörlerinin, apoptozis, osmoregulasyon, serebral kan akımının otoregülasyonu, anjiyogenez ve vazokonstriksiyonu inhibe edici birçok özelliği ortaya çıksa da henüz aydınlatılmamış yönleri de vardır (67).

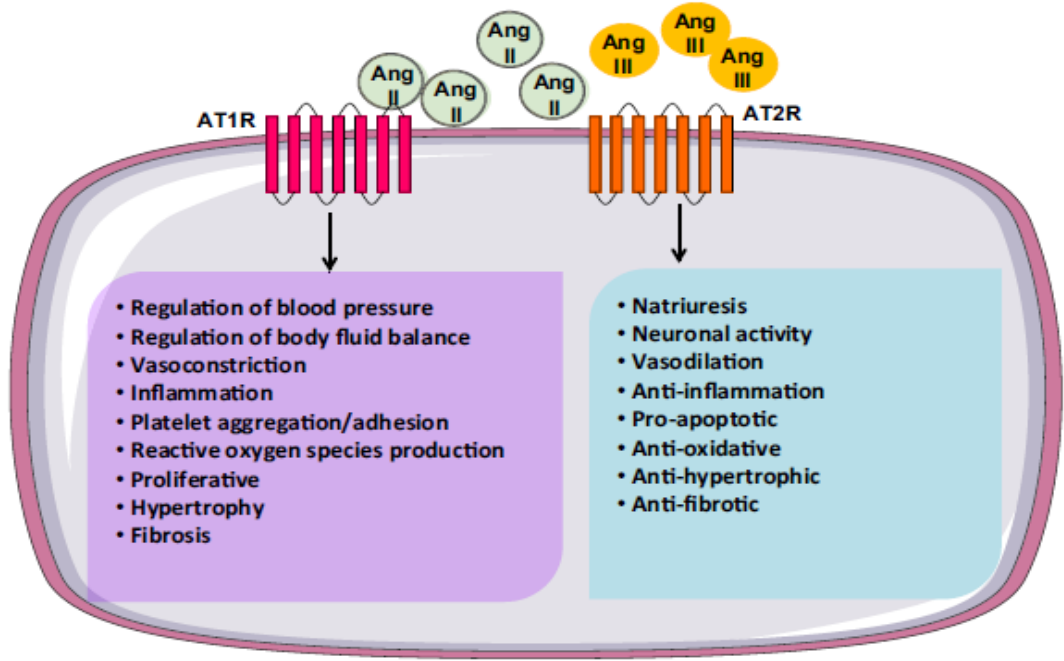
AT1 ve AT2 reseptör oranları farklı patolojik durumlarda değişmektedir. Miyokardiyal AT2 reseptör yoğunluğu, deneysel MI modelinde infarkt sahası içinde, infarktan bir gün sonra artmış olarak görülmüştür ve yedi gün sonra hem infarkte hem de non infarkte alanlarda AT2 reseptör yapımı artmıştır (68).Yine deneysel hipertrofik sıçan kalbindeAT2 reseptör yoğunluğu AT1' e göre artmış olarak bulunmuştur (69). AT2/AT1 oranının yetmezliği olan insan kalbinde de arttığı tespit edilmiştir (70). AII' nin kaspaz kaskadını aktive etmesiyle apoptozis üzerine olan uyarıcı etkisinin AT2 reseptör blokajı ile ortadan kalkması, bu reseptörün apoptozisdeki rolünü kanıtlamıştır(71). Tek hücre çalışmaları erişkin sıçan kalbinde % 50 oranında AT1 ve % 10 oranında AT2 reseptörü olduğunu, geri kalanın büyük çoğunluğunun ise skar dokusu olduğunu göstermiştir (72).

Sıçanlarda ve farelerde yapılan çalışmalar, AT2 reseptör mRNA' sının fetal dönemlerde yüksekken, doğumdan sonra hızla düştüğünü göstermiştir (66).Neonatal sıçan kardiyomiyositlerinden yapılan primer kültür çalışmaları göstermiştir ki; fetal yaşama göre % 50 oranında AT2 reseptöründe azalma olurken, AT1 reseptörlerinde

değişim olmamıştır (73). Kardiyak hipertrofi, MI, kardiyomiyopati (KMP), konjestif kalp yetmezliği gibi patolojik durumlarda AT2 reseptör sayısında belirgin artış olmaktadır (10). İleri derecede yetmezlik olan insan kalbinde AT2 reseptörleri total AII reseptörlerinin % 65'ini oluşturmaktadır. Bu da kalp yetmezliğinin şiddeti ile AT2 reseptör yoğunluğu arasında bir korelasyon bulunduğunu düşündürmüştür (74). Yine son evre iskemik kalp hastalığı veya dilate KMP'li hastaların ventriküllerinin infarkte alanlarında, intersitisyel ve endokardiyal bölgelerinde non-infarkte alanlara oranla istatistiksel olarak anlamlı yoğunlukta AT2 reseptörü bağlama alanları gösterilmiştir (75).

Ohkubo ve ark. da KMP'li hamsterların kalp yetmezliği esnasında hem AT1 hem de AT2 reseptör yapımında (sırasıyla % 72 ve % 153) artış rapor etmişlerdir (76). AT2 reseptör geni silinmiş farelerde yapılan çalışmalar, kontrole göre yüksek kan basıncı göstermiştir. Çalışmanın sonuçlarına dayanarak AT2 reseptörünün vazodilatasyon yapıcı etkisinin olduğu ve bu etkisini NO ve bradikinin aracılığı ile yaptığı düşünülmektedir (66). AT1 reseptör aktivasyonu; tirozin kinazın indüklediği protein fosforilasyonu, araşidonik asit metabolit üretimi, reaktif oksidan ürün aktivitelerinde değişme, hücre içi Ca^{+2} konsantrasyonunda artma yaparken, AT2 reseptör aktivasyonu, bradikinin, NO ve PG üretimine yol açar (77).

Bazı çalışmalarda AII'nin yol açtığı hipertansiyonu, AT1 reseptör antagonistleri ortadan kaldırırken, AT2 reseptör blokajı etkisiz kalmıştır. AT2 reseptör aktivasyonunun AII'nin proinflatuar etkilerinden bazılarını aracılık ettiği de bildirilmiştir (77). İnsan kalbinde ex vivo yapılan çalışmalar kardiyovasküler sistemin fizyopatolojik şekillenmesinde AT2 reseptör protein yapımının, AT1 reseptör proteinleri azaldığında dahi devam ettiğini göstermiştir. AT1 reseptörünün sıçan kardiyomiyositlerinde oluşturduğu hipertrofinin AT2 reseptör inhibisyonu ile ortadan kalkması, bu reseptörün kardiyak hipertrofi üzerine tonik inhibitör etkisinin olduğunu göstermektedir (67). Yapılan pek çok çalışmada AT1 reseptörü blokajı ile ortaya çıkan faydalı etkilerin AT2 reseptör antagonistlerince ortadan kalkması; hipertansiyon ve kardiyovasküler sistem hastalarının tedavi stratejilerinde AT2 reseptörleri hakkında ileri çalışmalara ve tanımlamalara ihtiyaç doğurmuştur.



Şekil 2.2. AT1 ve AT2 reseptörünün etkileri

2.2.2.3. AT2 Agonistleri

1. Peptid Yapılılar

CGP42112A

Parsiyel bir AT2 agonisti olan CGP42112A Ciba-Geigy tarafından geliştirilen ilk bileşik olup yüksek bağlanma afinitesi ve düşük etkili ile bir peptittir. Bu peptiderjik ajan, nispeten düşük konsantrasyonlarda reseptöre bağlanıp ve görünüşte onun fonksiyonlarını bloke ederken, yüksek konsantrasyonlarda bir agonist gibi etki ederek onu stimüle eder(78).

Novokinin

Novokinin (Arg-Pro-Leu-Lys-Pro-Trp) ovalbuminden üretilen, hipotansif bir peptid olan ovokinin (Arg-Ala-Asp-His-Pro-Phe) yapısı üzerine dizayn edilmiş potent biyoaktif bir peptiddir. AT2 reseptörüne yüksek bir afinitesi vardır (78).

2. Non-Peptid Yapıllar

Compound 21

Wan ve ark. (167) 2004 yılında ilk non-peptid selektif AT2 agonisti compound 21 (C21)'i tanımlamışlardır. Bileşik, non-selektif AT1 ve AT2 reseptör agonisti L-162313'in bir dizi işlem sonrasında selektif AT2 reseptör agonistine dönüştürülmesi ile elde edilmiştir(11).C21'in non-peptid doğasından dolayı sıçanlarda, yaklaşık olarak %20-30 kadar bir biyoyararlanımı ve 4 saatlik bir yarı ömrü vardır (13). Non-peptid agonist C21'in keşfi, AT2R hakkındaki araştırmaları kolaylaştırmıştır. C21, AT1R'yi etkilemeksizin hem oral hem de intravenöz yolla verilebilen potansiyel bir terapötik molekül olarak ve AT2R'yi hem in vitro hem de in vivo seviyede stimüle etmede spesifikliğı ile artan bir şekilde kabul görmüştür(56).Bugüne kadar yapılan çalışmalar, C21 aracılı AT2R aktivasyonunun, etioloji ve türe bakılmaksızın test edilen tüm deneysel renal hastalık modellerinde renal koruma sağladığını göstermiştir. C21'in, inflamasyon, oksidatif stres ve fibrozis inhibe etme kabiliyeti sayesinde tip 1 ve tip 2 diyabetik nefropati modellerine karşı koruyucu olduğu gösterilmiştir (79). C21 gibi agonistlerle AT2R'nin seçici olarak harekete geçirilmesi natriürezisi belirgin şekilde yükseltir(80).

Deneysel bir tip 2 diyabet modelinde Hakam ve Hussain' in yaptığı araştırmalar, C21 ile AT2R aktivasyonunun, obez Zucker diyabetik fareleri sodyum ve su tutma ile ilişkili kan basıncında artışa karşı koruduğunu göstermiştir.C21 in yaptığı natriürezin üriner sistemde NO ve cGMP artışı aracılı olduğu bulunmuştur (82). Plazma membranında AT2R translokasyonunda bozulmanın spontan hipertansif sıçanlarda hipertansiyon gelişimine ve aşırı sodyum tutulumuna neden olduğu bulunmuştur (56).

Böbrek, sodyum ve su dengesinde ve kan basıncının korunmasında büyük etkisi olan önemli bir kardiyovasküler organ olup, AT2R'nin pro-natriüretik etkisi, AT2R'yi, kardiyovasküler ve renal homeostasisi patolojik durumlarda korumak için kullanılabilir bir terapötik hedef olarak tanımlamıştır (56).

Bruce E. ve arkadaşları monokrotalin ile ratlarda oluşturdukları deneysel pulmoner hipertansiyon modelinde C21'in sağ ventrikülün fonksiyonlarını iyileştirerek hastalığın ilerlemesini durdurduğunu göstermişlerdir. C21 tedavisi akciğer ve kalpte fibrozisi engellemiş pulmoner arterlerde inflamasyonu ve yapısal remodellingi

azaltmıştır. Bu faydalı etkilerin IL-1 Beta, TNF-alfa, ve TGF-beta gibi ajanların seviyesindeki düşüş ve böylece inflamasyonda azalma sayesinde olduğu vurgulanmıştır. Antifibrotik etkisi ile C21 in pulmoner hipertansiyon tedavisinde yeni bir yaklaşım olabileceğini ileri sürmüşlerdir. (82)

C21'in aksonların uzamalarını indüklediği, mitojen aktive edici protein kinazları (MAPK) stimüle ettiği, sıçanlarda duodenal mukus alkalizasyonunu artırdığı ve SHR'de ortalama arteriyel kan basıncını azalttığı gösterilmiştir.(83)

2.3. Valsartan

Valsartan, spesifik bir anjiotensin II (AT II) reseptör antagonistidir. Oral yolla alındığı zaman aktifleşir. Özellikle anjiotensin I (AT I) reseptör alt-tipi üzerinde seçici bir etki gösterir. AT I reseptöründe hiçbir kısmi agonist etkisi olmayan valsartanın bu reseptöre olan afinitesi, AT II reseptörüne olan etkisinin yaklaşık 20000 katıdır. Valsartan, kininaz II adıyla da bilinen, A I'i A II'ye dönüştüren ve bradikininini parçalayan enzim olan "ACE" yi inhibe etmez. Diğer hormon reseptörlerine veya kardiyovasküler düzenlemede önemli oldukları bilinen iyon kanallarına bağlanmaz ve bloke etmez. HT hastalarına valsartan verilmesi sonucunda, nabız sayısı değişmez ve kan basıncı azalır. Hastaların çoğunda antihipertansif etki, bir tek oral dozun alınmasından sonraki iki saat içerisinde başlar ve dört-altı saat içerisinde en yüksek seviyeye ulaşır. Antihipertansif etki dozun verilmesinden sonra 24 saat boyunca devam eder. Tekrarlanan dozlar kullanıldığı zaman, maksimal kan basıncı azalması, hangi doz kullanılırsa kullanılsın genellikle 2-4 hafta içerisinde elde edilir ve uzun süreli tedavi sırasında aynı şekilde devam eder (84).

VALIANT çalışmasında günde iki kez verilen 160 mg valsartan, MI sonrası ölümcül ve ölümcül olmayan kardiyovasküler olaylar açısından risk altında olan hastalarda günde üç kez 50 mg kaptopril kadar etkili bulunmuştur. Valsartan ile kaptoprilin kombinasyonu sağkalımı iyileştirmeden kötü sonuçları artırmıştır. (85) Hipertansiyondaki standart onay haricinde kalp yetersizliğinde (NYHA sınıf II-IV), hastaneye yatışı azaltmak için FDA' den onayı vardır. Valsartanın yeterli bir ACE inhibitörü dozu ile kullanıldığında yarar sağladığına ait kanıtın olmadığı yönünde bir uyarı da mevcuttur. Bu yüzden ACE inhibisyonuna ek olarak onaylanmamıştır. Ancak,

sol ventrikül yetersizliği veya disfonksiyonu olan klinik olarak stabil hastalarda kardiyovasküler mortaliteyi azaltmak için onay almıştır (57).

Yüksek riskli hipertansiflerde 15.245 hasta üzerinde yapılan en geniş ARB çalışması VALUE'dir. VALUE çalışmasında, günde 160 mg valsartan, 10 mg lık amlodipin ile karşılaştırılmış gerekirse her iki gruba da tiyazid eklenmiştir. ARB'nin kalsiyum kanal blokerleri ile karşılaştırıldığında avantajı daha az yeni kalp yetersizliği ve yeni diyabet oluşumudur (57).

Kalp yetersizliği açısından valsartan, tip 2 diyabeti veya bozulmuş glukoz toleransı olan Japon hipertansif hastalarda amlodipin ile karşılaştırılmıştır. Valsartan grubunda daha az olan yeni kalp yetersizliği dışında (1150 hastada sadece 18) tüm ana kardiyovasküler sonuçları aynıdır (84).

2.4. İsoptorenol

Sistemik ismi 4-(1-hidroksi-2-[(metiletil) amino]etil)-1,2-benzendiol hidroklorit, kapalı formülü C₁₁H₁₇NO₃.HCl, molekül ağırlığı 242.72 g olan non-selektif β adrenoseptör agonistidir. Sentetik bir semptomimetik katekolamin olup, β₁ ve β₂ reseptörlerini uyarır (85).

İsopterenol (ISO), yapı olarak adrenaline çok benzer. Ancak adrenalin gibi α reseptörlerini etkilemez. Vazokonstriktör değil, vazodilatör etkisi vardır. Bağırsakta inaktive edildiğinden ağız yoluyla kullanılamaz. İskemik koroner hastalığı olanlarda kontraendikedir (85).

ISO, intravenöz veya aerosol şeklinde inhalasyon yoluyla, astım tedavisinde bronkodilatör olarak; kalp bloğunda kalp hızını arttırmak amacıyla ve pulmoner hipertansiyonlu hastalarda pulmoner vasküler rezistansı azaltmak amacıyla kullanılır (86). İsopterenol, ratlarda deneysel miyokart infarktüsü oluşturmak için yaygın olarak kullanılan sentetik bir katekolamindir (87). İsopterenol ile miyokart infarktüsü oluşturulmuş sıçan kalbinde meydana gelen patofizyolojik değişikliklerin insanlarda miyokart infarktüsü sonrası oluşan değişikliklere benzerlik gösterdiği bilinmektedir (88). Katekolamin ile uyarılmış nekrozda, siklik adenosin monofosfat düzeylerindeki artışın intrasellüler kalsiyum artışının ve yüksek enerjili fosfatların tüketilmesinin

önemli rol oynadığı bildirilmiştir(89). Katekolaminler tarafından uyarılan miyokardiyal nekrozun patogenezi multifaktöryel olmasına rağmen oksidatif stresin önemli rolü olduğu gösterilmiştir(90). Miyokart hasarını nasıl oluşturduğu hala tamamen anlaşılmamıştır, ancak klinik incelemeler miyokart hipertrofinin ISO tarafından oluşturulduğunu göstermektedir (91). Patogenezi oksidatif stres, kalsiyum aşırı yükü, apoptoz ile bağlantılıdır. ISO enjekte edildiğinde, otomatik oksidasyona uğrayarak membran fosfolipidlerinin peroksidasyonunu teşvik eden ve ciddi hasara neden olan oldukça sitotoksik serbest radikaller üretir (92). İsoproterenol, yıllardır sıçanlarda kalp yetmezliği modelini oluşturmak için kullanılmıştır. Bu sıçan modelinin kardiyak patofizyolojik ve morfolojik değişiklikleriyle insan kalp yetmezliği karşılaştırılabilir. R.Zhou ve arkadaşları yaptıkları çalışmada 7 gün boyunca subkutan enjeksiyon ile 5 mg/kg isoproterenol uygulanan ratlarda ventriküler remodelling, hipertrofi, anormal apikal morfoloji ve ciddi fibrozis geliştiğini göstermişlerdir(93). İsoproterenol, ratlarda insan kalp yetmezliğindeki hemodinamik ve patolojik değişikliklere benzer şekilde; kardiyak hipertrofi, fibroblast proliferasyonu, bağ dokusu birikimi ve miyokart kompliyansında azalmaya yol açarak diastolik ve sistolik fonksiyonların bozulmasına neden olabilir (94).

2.5. Serbest Radikaller

2.5.1. Kalp Yetersizliği Ve Oksidatif Stres

Oksidatif stresin endotel disfonksiyonu, ateroskleroz, hipertansiyon, kalp yetersizliği ve reperfüzyon hasarı gibi birçok önemli kalp hastalığının oluşumunda ve ilerlemesinde rolü olduğu bilinmektedir.

Dokularda oksijen kullanımının sonucu olarak reaktif oksijen metabolitleri meydana gelmektedir. Bu metabolitlerin etkilerini önleyen veya geciktirebilen maddelere antioksidan denilmektedir. Oksidanlar ve antioksidanlar arasındaki denge aşırdığında reaktif oksijen türlerinin yapılmasına ve oksidatif hasara neden olur. Bu durum oksidatif stres olarak bilinir. Oksidatif stres doğal bir süreçtir (95). Reaktif oksijen metabolitlerinde artma, antioksidan enzim seviyesinde azalma sonucu hücrenin oksidatif strese karşı savunma hattı kırılmakta ve hücre ölümü gerçekleşmektedir (95).

Oksidatif stresin etkilediği en önemli hastalıklardan biri kalp yetersizliğidir. Miyokart infarktüsü sonrası kalp yetersizliği geliştirilen hayvan çalışmalarında süperoksit dismutaz, katalaz (CAT), glutasyon peroksidaz ve E vitamini gibi miyokardiyal antioksidanlar azalırken, serbest oksijen radikallerinin ve oksidatif stresin arttığı gösterilmiştir (96). Hayvan deneylerinde antioksidan enzim/ilaçlarla profilaksinin iskemi/reperfüzyon hasarına karşı koruyucu olduğu gösterilmiştir. Bunu destekleyen çalışmalarda, süperoksit dismutaz ve CAT gibi enzimlerin koruyucu olup olmadığı incelenmiştir. Bazı çalışmalarda bu enzimler koruyucu, bazılarında erken dönemde koruyucu, bazılarında ise faydasız bulunmuştur (97). Hill ve ark.ları da sıçanlarda yaptıkları bir çalışmada koroner ligasyondan sonra sol ventrikül pik sistolik basınç ve sol ventrikül end-diastolik basınçlara göre hafif, orta ve ağır kalp yetersizliği belirledikleri sıçanlarda antioksidan enzim düzeylerini çalışmışlar ve CAT seviyelerinde progressif bir düşüş belirlemişlerdir. Baumer ve ark.ları ise idiyopatik dilate kardiyomyopatisi olan hastalarda CAT mRNA'sında değişiklik olmaksızın enzim aktivitesinde azalma tespit etmişlerdir (98).

2.5.2. Hücrede Hasar Oluşumu

Serbest oksijen radikalleri, hücre membranı proteinlerini yıkarak hücreleri öldürür; membran lipid ve proteinlerini yok ederek hücre membranını sertleştirip hücre fonksiyonunu engeller; çekirdek membranını yararak çekirdekteki genetik materyale etki edip DNA'yı kırılma ve mutasyonlara açık hale getirir; immün sistemdeki hücreleri yok ederek immün sistemi bozar. İzole edilmiş kalplerde yapılan çalışmalarda, oksijen radikali oluşumuna yol açan her olayın, yüksek enerjili fosfatlarda azalmaya, kontraktıl fonksiyon kaybına ve yapısal anormalliklere neden olduğu gösterilmiştir. Katekolaminerjik stresin indüklediği kardiyak hasarı araştıran in vitro çalışmalarda, katekolaminlerin otooksidasyonunun serbest radikal üretimini başlatıp kardiyak disfonksiyona yol açtığına dair bulgular elde edilmiştir (99).

2.5.2.1 Nitrik oksit (NO•) Radikali

NO molekül ağırlığı düşük, gaz tabiatında oldukça reaktif bir moleküldür. Yağda çözünür ve biyolojik membranlardan kolaylıkla geçer. Yarılma ömrü çok kısa (3-5 saniye) olduğundan nitrit veya nitrata hızla okside olur. Bunlar NO• radikalinin stabil son ürünleridir. Nitrik oksit endotel hücresi, sinir hücresi, düz kas hücresi,

makrofaj ve trombosit gibi çeşitli hücrelerde sentezlenir. Bu hücrelerde nitrik oksit sentaz (NOS) enzimi aracılığıyla L-Arginin'den sentezlenir. Sonuçta L-Sitrülin ve NO oluşur. NO kardiyoprotektif önemli bir moleküldür. Ancak bu etkisi doza bağlıdır. Düşük dozda faydalı olduğu görünürken, yüksek dozda zararlıdır.

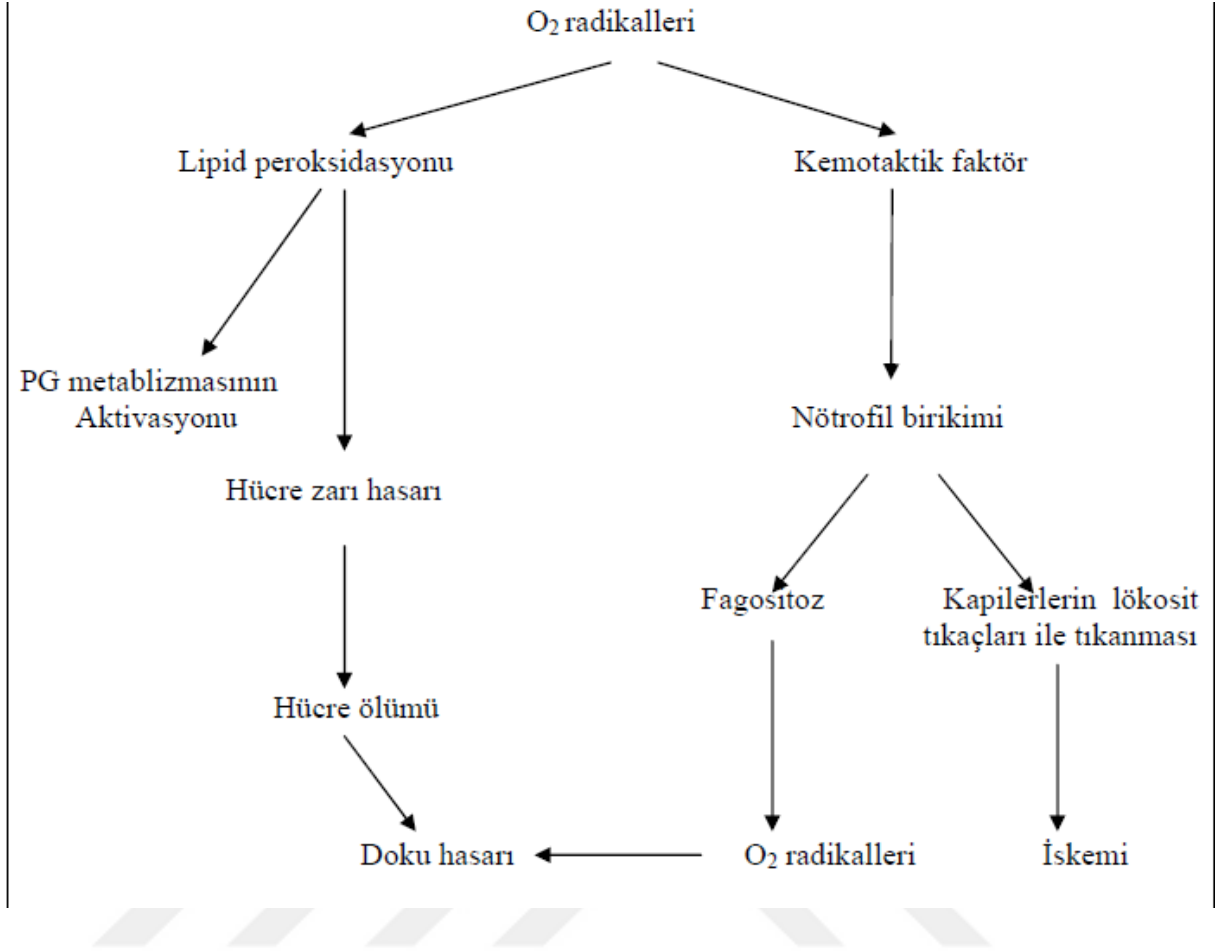
Normalde, NO'nun küçük miktarı endotelial NOS tarafından üretilir ve vasküler tonusu regüle eder. İskemi reperfüzyon hasarında NO sentezi artar ve NO'nun toksik etkileri ortaya çıkar(100). NO'nun kardiyovasküler sistemde yaygın olarak kullanılan bir sinyal molekülü olduğu ve kalp yetmezliği durumunda vasküler endotel için koruyucu etkileri olduğu kanıtlanmıştır.NO, kardiyovasküler hastalıklarda kritik öneme sahiptir (94).

2.5.2.2 Malondialdehit

Serbest radikallerin en önemli hasarlarından biri lipid peroksidasyonudur ve bu MDA oluşumu ile değerlendirilebilir (101). MDA, lipid peroksidasyon yan ürünüdür. Üç veya daha fazla çift bağ içeren yağ asitlerinin peroksidasyonu sonucu meydana gelir. Günümüzde birçok hastalıkta oksidatif stres belirteci ve doku hasarının iyi bir göstergesidir (98).İskemi reperfüzyon (İ/R) hasarının şiddetini değerlendirmede yaygın kullanılan geleneksel yöntemlerden biridir, fakat duyarlılığı ve özgünlüğü düşüktür (101).

2.5.2.3 Miyeloperoksidaz

Miyeloperoksidaz (MPO) enzimi, dokularda polimorfonükleer lökositlere spesifik bir enzimdir. Doku lökosit düzeyini göstermede yol göstericidir. MPO enzimi dokuda biriken polimorfonükleer lökositleri gösteren bir enzim olarak kullanılır ve reperfüzyon hasarının göstergesi olarak kabul edilir (97).



Şekil 2.3. Oksijen radikallerinin etki mekanizması

2.6. Radikallere Karşı Savunma Mekanizmaları

2.6.1. Antioksidanlar

Endojen antioksidanlar, enzim ve enzim olmayanlar olmak üzere iki sınıfa ayrılırlar.

Enzim olan endojen antioksidanlar şunlardır: 1) Süperoksit dismutaz (SOD). 2) Glutasyon peroksidaz (GSH-Px). 3) Glutasyon S-Transferazlar (GST). 4) Katalaz (CAT). 5) Mitokondriyal sitokrom oksidaz sistemi. 6) Hidroperoksidaz.

Enzim olmayan endojen antioksidanlar şunlardır: 1) Melatonin. 2) Seruloplazmin. 3) Transferrin. 4) Miyogloblin. 5) Hemogloblin. 6) Ferritin. 7) Bilirubin. 8) Glutasyon. 9) Sistein. 10) Metiyonin. 11) Ürat. 12) Laktoferrin. 13) Albümin.

2.6.1.1. Gluatyon Peroksidaz

Daha çok hücrenin sitozollerinde bulunur. Membran lipidlerini ve hemoglobini oksidatif hasara karşı korur. İnsanlarda dört farklı GSH-Px bulunur. GSH-Px'in aracılık ettiği katalitik reaksiyonun substratları, H₂O₂ ve organik peroksit ROOH'dır. GSH-Px, fagositik hücrelerde önemli görevlere sahiptir. Eritrositlerde oksidatif strese karşı en etkin antioksidandır. GSH-Px aktivitesindeki azalma H₂O₂'nin artmasına ve şiddetli hücre hasarına neden olur (97).

2.6.1.2. Süperoksit Dismutaz (SOD)

Esas endojen antioksidandır. Oksijen üreten tüm mikroorganizmalarda bulunan metalloproteindir. Oksijen kullanımı yüksek olan dokularda SOD aktivitesi artar. Substratı olan süperoksitin moleküler oksijene dönüşümünü sağlar. Hücrelerdeki SOD ve GSH-Px aktivitesi arasındaki dengesizlik hücrelerdeki oksidatif stresin bir belirteci olarak kabul edilir. SOD, fagosite edilmiş bakterilerin hücre içinde öldürülmesinde de görev alır. Hücreyi özellikle DNA'yı radyasyonun iyonizan etkisine karşı koruyucudur (102).

2.6.1.3. Katalaz

Bütün memeli hücrelerinde genellikle kan, kemik iliği, subsellüler organellerinin iç kısmında bulunan peroksizom enzimidir. Aktif merkezinde dört adet hem grubu içeren tetramerik yapıya sahip bir hemoproteindir. Dokuları H₂O₂ molekülünü su ve oksijene metabolize ederek reperfüzyon hasarından korur. H₂O₂ oluşumunu, lipid peroksidasyonu ve vasküler hasarı baskılar (102).

2.6.1.4. Glutatyon

Tiyol grubu antioksidanlardan biridir. Tripeptit yapıya sahip olup sitozol, çekirdek ve mitokondride yüksek oranda bulunur. Glutatyonun redükte formu GSH (glutatyon); okside formu GSSH (glutatyon sülfid)dir. GSH çekirdekte DNA yapımı ve onarımı için gerekli olan sülfhidril proteinlerinin redükte durumunun sürdürülmesinde görev alır (103).

2.7.Konneksin

Konneksin 43 (Cx43) ventriküler kardiyomiyositlerdeki başlıca konneksin proteini'dir. Kardiyomiyosit mitokondrilerinde de bulunur.Cx43, oksijen tüketimi ve potasyum akışı gibi mitokondriyal fonksiyonlar için önemlidir. Cx43'ün ekspresyonu; hipertansiyon, hipertrofi, hiperkolesterolemi, iskemi / reperfüzyon hasarı, enfarktüs sonrası ventrikül remodellingi ve kalp yetmezliği gibi çeşitli patofizyolojik koşullar altında değişir. Buna ek olarak, yetmezliği olan fare, sıçan ve köpek kalplerindeki toplam Cx43 miktarı azalır. İskemik veya dilate kardiyomiyopati nedeniyle son dönem kalp yetmezliği olan hastalarda plazma membranında Cx43'ün heterojen bir dağılımı görülmektedir (104).

Kalp yetmezliğinde mitokondrial Cx43 ün rolüyle ilgili veriler sınırlıdır. Pecararo M. Ve arkadaşları yaptıkları çalışmada, doksorubisin kardiyotoksisite modelinde mitokondrial Cx43 işlevini ele almışlardır. Burada doksorubisin, Cx43'ün mitokondriyal translokasyonunu uyarır. Cx43'ün mitokondriye aktarılmasının engellenmesi, ROS oluşumunu ve mitokondriyal Ca^{2+} içeriğini artırır ve tek başına doksorubisin tedavisine kıyasla mitokondriyal membranın depolarizasyonunu artırır. Mitokondrial Cx43, doksorubisin kaynaklı kardiyotoksisiteye karşı koruma açısından önemlidir (105).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Deney Hayvanları ve Beslenmeleri

Deneylere başlamadan önce, İnönü Üniversitesi Deney Hayvanları Etik Kurulundan onay raporu alındı. Çalışmamız İnönü Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Fonu tarafından desteklendi (Proje No: BAP-2016/41). Deneyde İnönü Üniversitesi Deney Hayvanları Araştırma Birimi'nde üretilmiş ve standart laboratuvar koşullarında ($22\pm 1^{\circ}\text{C}$, %60 nem ortamında, 12 saat aydınlık/12 saat karanlık siklusunda) tutulmuş, add-libitum olarak beslenen, aynı biyolojik ve fizyolojik özelliklere sahip rastgele seçilen yedişerli sekiz gruptan oluşan toplam 56 adet Wistar Albino cinsi erkek rat kullanıldı. Hayvan atıklarının uzaklaştırılması, su ve yemlerinin sağlanması, kafeslerin temizlenmesi ve kontrolü merkezin veteriner hekimi ve personelleri tarafından yapıldı. Çalışma, İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi Deney Hayvanları Birimi, İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi Kardiyoloji Anabilim Dalı, İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi Farmakoloji Anabilim Dalı, İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji Anabilim Dalı ve İnönü Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Kimya Anabilim Dalı'nda gerçekleştirildi.

3.2. Deney Gruplarının Oluşturulması ve Deneysel Uygulamalar

Deneysel çalışmalar, toplam 56 adet sıçan üzerinde gerçekleştirildi. Tüm sıçanlar aynı ortamda gözetim altında tutuldu ve aynı standart sıçan yemi verilerek add-libitum su ve yiyecek alımları sağlandı. Deney hayvanları her grupta 7 hayvan olacak şekilde 8 gruba ayrıldı:

Grup 1 (n:7): Kontrol grubu: Sadece çözücü uygulanan grup (n=7) 30 gün oral izotonik uygulandı.

Grup 2 (n:7): Sadece isoproterenol uygulanan grup: 180 mg/kg dozunda isoproterenolün s.c. 24 saat aralıklarla iki doz uygulandığı grup (n=7), deneyin ilk 28 günü oral izotonik verildi. 29. ve 30. günlerde s.c. isoproterenol 180 mg/kg uygulandı.

Grup 3 (n:7): Valsartan kontrol grubu: 30 gün boyunca günde bir kez 30 mg/kg oral valsartan uygulandı.

Grup 4 (n: 7): C21 kontrol grubu: 30 gün boyunca günde bir kez 0.03 mg/kg i.p. C21 uygulandı.

Grup 5 (n: 7): Valsartan + C21 kontrol grubu: 30 gün boyunca günde bir kez valsartan 30 mg/kg oral ve compound 21 0.03 mg/kg i.p. birlikte uygulandı.

Grup 6 (n:7): Valsartan + ISO grubu: 30 gün boyunca oral valsartan 30 mg/kg günde bir kez verildi ve deneyin 29. ve 30. gününde ISO 180 mg/kg s.c. uygulandı.

Grup 7 (n:7) : C21 + ISO grubu: 30 gün boyunca C21 0.03 mg/kg dozunda i.p. verildi ve deneyin 29. ve 30. gününde isoproterenol 180 mg/kg s.c. uygulandı.

Grup 8 (n:7) : Valsartan + C21+ ISO grubu: 30 gün boyunca günde bir kez valsartan 30 mg/kg oral ve compound 21 0.03 mg/kg i.p. birlikte uygulandı. Deneyin 29. ve 30. gününde isoproterenol 180 mg/kg s.c. uygulandı.

3.3. Elektrokardiyografi ve ekokardiyografi uygulanması

Deneyin başlangıcında tüm gruplardaki sıçanlara herhangi bir uygulama yapmadan önce ketamin/ksilazin anestezisi altında (ketamin hidroklorür, Parke- Davis. Eczacıbaşı, İstanbul, 75 mg/kg ve 5 mg/kg ksilazin hidroklorid Rompun, Bayer İlaç) transtorasik ekokardiyografi (TTE) (Vivid S6, United States, 10s prob) yapıldı. 2D, MMode ve Doppler ölçümler alındı. İnterventriküler septum kalınlıkları (IVS), posterior duvar kalınlıkları (PW), sol ventrikül end diastolik çapı (LVIDd), sol ventrikül end sistolik çapı (LVIDs), sol ventrikül fraksiyonel kısalması (LVFS), sol ventrikül ejeksiyon fraksiyonu (LVEF), sol atrium ve aort kökü çapı, mitral valv E/A oranı, E dalgası deselerasyon zamanı ve kalp hızı ölçüldü. Deney protokolü bitiminde ratlara anestezisi altında tekrar transtorasik ekokardiyografi uygulanarak yukarıda bahsedilen ölçümler tekrarlandı.

Deney sonlandıktan sonra cerrahi işlemin hemen öncesinde anestezisi altındaki ratların sistolik, diastolik ve ortalama kan basıncı (KB) ve kalp hızı (KH) tayini için karotis arterlerden biri kanüle edildi. Karotis arterde kanama veya kopma dahil herhangi bir sorun olduğunda diğer damar yedek olarak kullanıldı. EKG değişikliklerini izlemek için 3 derivasyonlu EKG elektrotları kullanıldı. Kan basıncı (KB), kalp hızı (KH) ve EKG değerleri Biopac MP-100 Data Acquisition sistem bilgisayar kayıt programı kullanılarak 3 dakika boyunca kaydedildi. Alınan bilgisayar kayıtlarından aritmi

çeşitliliği, st segment ve t dalga değişikliği değerlendirildi. PR, QRS ve QT süreleri hesaplandı.

3.4. Cerrahi İşlem

Operasyondan önce ratlara, anestezi için % 2'lik ksilazin hidroklorür (Rompun, Bayer) 10 mg/kg ve ketamin hidroklorür (Ketalar, Phizer) 50 mg/kg i.p. yolla uygulandı. Ameliyat masasına supin pozisyonunda yatırıldı. Karotit artere kanül yerleştirildi. Anestezi altında hemodinamik değişkenlerini (EKG, kan basıncı ve kalp hızı) MP-100 data akustik sistem vasıtasıyla karotis arter kanülasyonu ve uygun EKG elektrotları aracılığı ile ölçümleri yapıldı. Ardından % 10 povidon-iyot ve steril gazlı bez ile operasyon alanı temizlendi. Sonra toraksa yapılan 3 cm'lik medyan insizyonla cilt, cilt altı, fasya ve toraks açıldı. Biyokimyasal ve histopatolojik değerlendirme için çıkarılan kalp vertikal ve horizontal olarak ikiye ayrıldı % 10 formol içeren flakonlara alınarak +4 °C'de saklandı. Tüm denekler işlem sonunda sakrifiye edildi.



Resim 3.1.Deneyin cerrahi aşamadaki görüntüsü

3.5. Histolojik Metotlar

3.5.1. Histokimyasal Analizler

Deney sonunda alınan kalp dokusu, %10'luk formaldehit içerisinde tespit edildi. Doku takibi işlemlerinden sonra hazırlanan parafin bloklardan, 4-5 µm kalınlığında kesitler alındı. Kesitlere, genel morfolojik yapının belirlenmesi için hematoksilin-eozin (H-E) boyama metodu uygulandı.

Kalp kesitleri; miyokardiyumda granülasyon dokusu, intersitisyel ödem ve dejenere kardiyomiyosit (yoğun eozinofilik sitoplazma, piknotik nükleus, miyofibril kaybı, intrastoplazmik vakuol) varlığı yönünden incelendi. Her alan, histolojik değişikliklerin yaygınlığına göre, 0; normal, 1; %25'ten az değişiklik, 2; %25-50 arasındaki değişiklik, 3; %50'den fazla değişiklik olacak şekilde skorlandı.

Analizler, Leica DFC-280 araştırma mikroskopu ile Leica Q Win Image Analiz Sistemi (Leica Micros Imaging Solutions Ltd., Cambridge, UK) kullanılarak yapıldı.

3.5.2. İmmünohistokimyasal analizler

İmmünohistokimyasal analizler için deparafinizasyon ve rehidrasyon işlemlerinden geçirilen kesitler düdüklü tencereye alınarak 0.01 M sitrat (pH 6.0) içinde 15-20 dk kaynatıldı. Endojen peroksidaz enzim aktivitesini bloke etmek için kesitlere 12 dk boyunca %3'lük hidrojen peroksit uygulandı. PBS ile yıkanan kesitlere 5 dk süresince protein blok (ultra V blok) uygulaması yapıldı. Daha sonra kesitler 37 °C'de 60 dk primer antikor (konneksin-43, Abcam) ile inkübe edildi. PBS ile yıkanan dokulara 37 °C'de 10 dk boyunca biotinli sekonder antikor uygulandı. Bu işlem sonrasında kesitler 37 °C'de 10 dk streptavidin peroksidaz ile inkübe edildi. Ardından kromojen uygulaması yapılan kesitler hematoksilin ile boyanarak su bazlı kapatıcı ile kapatıldı.

Konneksin-43 analizi için kardiyomiyositlerin uzun eksenine paralel düzlemdeki alanlar seçildi. Konneksin-43 ekspresyon kaybı, x20'lik büyütmede, yok; 0, hafif; 1, orta; 2 ve şiddetli; 3 olacak şekilde skorlandı.

3.6. Biyokimyasal Değerlendirme

3.6.1. Doku biyokimyası

Homojenizasyon: Dokular, buz gibi soğuk fosfat tamponlu tuzlu suda homojenleştirildi (PCV Kinematica Status Homogenizator) (ph 7.4) Homojen at, bir ultrason cihazı (Bronson sonifier 450) ile 3 çevrimle sonlandırıldı (buz üzerinde 20 saniyelik sonasyonlar ve 40 s duraklama). Homojenat santrifüjlendi (15,000 xg, 10 dakika, 4   C) ve hücresiz süpernatant derhal enzim analizine tabi tutuldu.

3.6.2 Enzim Aktivitelerinin Belirlenmesi

3.6.2.1. Katalaz (CAT) Deneyi

CAT aktivitesi 37   C'de 240 nm'de hidrojen peroksit (H₂O₂) kaybolma hızını izleyerek ölçülmüştür (240 nm = 40 M⁻¹ cm⁻¹) . Bir katalaz aktivitesi, 37   C'de dakikada 1 mol H₂O₂'nin parçalanmasını katalizleyen enzim miktarı ve mg protein başına dakikada bir substratın dönüşümü (mol cinsinden) (H₂O₂) olarak tanımlanır. (106)

3.6.6.2. Süper oksit Dismutaz (SOD) Deneyi

Süpernatant fraksiyonundaki SOD (Cu, Zn-SOD) aktivitesi, ksantin oksidaz / sitokrom c yöntemi [McCord ve Fridovich, 1969] kullanılarak ölçüldü; burada 1 nite (U) aktivite, Sitokrom C azalmasında yarı maksimum inhibisyona neden olmak için gerekli enzim miktarıdır. Ekstraktaki SOD miktarı, standart olarak bir ticari SOD kullanılarak, enzim mg⁻¹ proteini U olarak belirlendi (107).

3.6.6.3. GSH-Px Deneyi

GSH-Px aktivitesi, substrat olarak H₂O₂ kullanılarak 340 nm'de NADPH oksidasyon oranının ölçülmesiyle, bağlanmış tahlilde glutatyon redüktaz ile belirlendi. Spesifik aktivite, mg protein başına dakikada kaybolan NADPH (mol) miktarı olarak verilir (108).

3.6.6.4. Lipid peroksidasyon tahlili (MDA)

Lipid peroksidasyonunun analizi küçük bir modifikasyon ile tarif edildiği gibi gerçekleştirildi. Reaksiyon karışımı, 2 ml reaksiyon solüsyonuna (% 15 trikloroasetik asit:% 0.375 tiobarbitürik asit: 0.25 N HCl, 1: 1: 1, aę / hac) 250 uL homojenat ilave

edilerek hazırlandı ve 15 dakika boyunca 100 ° C'de ısıtıldı. Karışım oda sıcaklığına soğutuldu, santrifüj edildi (10 dakika süreyle 10.000 g) ve süpernatanın absorbansı 532 nm'de kaydedildi. 1,1,3,3 tetrametoksipropan MDA standardı olarak kullanıldı. MDA sonuçları, homojenatta nmol mg⁻¹ protein olarak ifade edildi (109).

3.6.6.5. Toplam Glutasyon (tGSH) Deneyi

5-tiyo-2-nitrobenzoat (TNB) oluşumu, 412 nm'de spektrofotometrik olarak izlenir. Ekstaktaki GSH miktarı, ticari bir GSH'yi standart olarak kullanan nmol / mg protein olarak tespit edildi (110).

3.6.6.6. Myeloperoksidaz Aktivitesi (MPO)

Dokuya bağlı MPO aktivitesi, Hillegas ve arkadaşları tarafından belgelenen prosedüre benzer bir prosedür kullanılarak ölçüldü. Kalp örnekleri, 50 mmol / L potasyum fosfat çözücüsü (PB, pH 6.0) içinde homojenleştirildi ve 41400 g'de (10 dakika) santrifüj edildi; Peletler, % 0.5 heksadesiltrimetilamonyum bromid (HETAB) içeren 50 mmol / L PB'de süspansiyon edildi. Döngüler arasında sonikasyon olmak üzere üç dondurma-çözme çevrimi, numuneler 10 dakika boyunca 41400 g'de tekrar santrifüje tabi tutuldu. 50 mmol / L PB, o-dianisidin ve 20 mmol / L H₂O₂ çözeltisi içeren 200 uL reaksiyon karışımına alikotlar (25 uL) ilave edildi. Bir enzim aktivitesi birimi, 460 nm'de ölçülen, emilimde 5 dakikalık değişikliğe neden olan MPO miktarı olarak tanımlandı. MPO aktivitesi U / g dokusu olarak ifade edildi (111).

3.6.7. Nitrik Oksit Deneyi (NO)

Doku örneklerinin nitrik oksit (NO) seviyeleri, Oxford Biyomedikal Araştırması Kolorimetrik Nitrik Oksit Test Kiti kullanılarak ölçüldü. Bu kit, biyolojik numunelerde NO₂ / NO₃ miktarının belirlenmesinde uygun bir yöntem sağlar: in vitro NO üretiminin nihai ürünleri. Bu nedenle, toplam NO üretiminin en iyi endeksi, bu ürünlerin her ikisinin toplamıdır. Sonuçlar mmol / mg protein olarak ifade edildi. Doku numunelerinin protein seviyeleri Bradford yöntemi kullanılarak ölçülmüştür. Emilim ölçümü UV-VIS spektrofotometre kullanılarak 595 nm'de alındı. Protein standardı olarak sığır serum albümin (BSA) kullanılmıştır (112).

3.6.8. Protein tayini

Doku numunelerinin protein seviyeleri Bradford yöntemi ile ölçülmüştür. Emilim ölçümü UV-VIS spektrofotometre kullanılarak 595 nm'de alındı. Standart protein olarak sığır serum albümin (BSA) kullanılmıştır (113).

3.9. İstatistik

Çalışmada; sayısal değişkenler ortanca (minimum-maksimum), kategorik değişkenler ise sayı ve yüzde ile özetlendi. Sayısal değişkenlerin normal dağılıma uygun olup olmadığı Shapiro-Wilk testi ile değerlendirildi. Sayısal değişkenler açısından grup değişkeninin kategorileri arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık olup olmadığı Kruskal-Wallis sıralamalı tek-yönlü varyans analizi ile test edildi. Grup kategorilerinin çoklu karşılaştırmaları ise Conover testi ile yapıldı. $p < 0.05$ istatistiksel anlamlılık düzeyi olarak kabul edildi. Analizlerde IBM SPSS Statistics 22.0 paket programı kullanılmıştır.

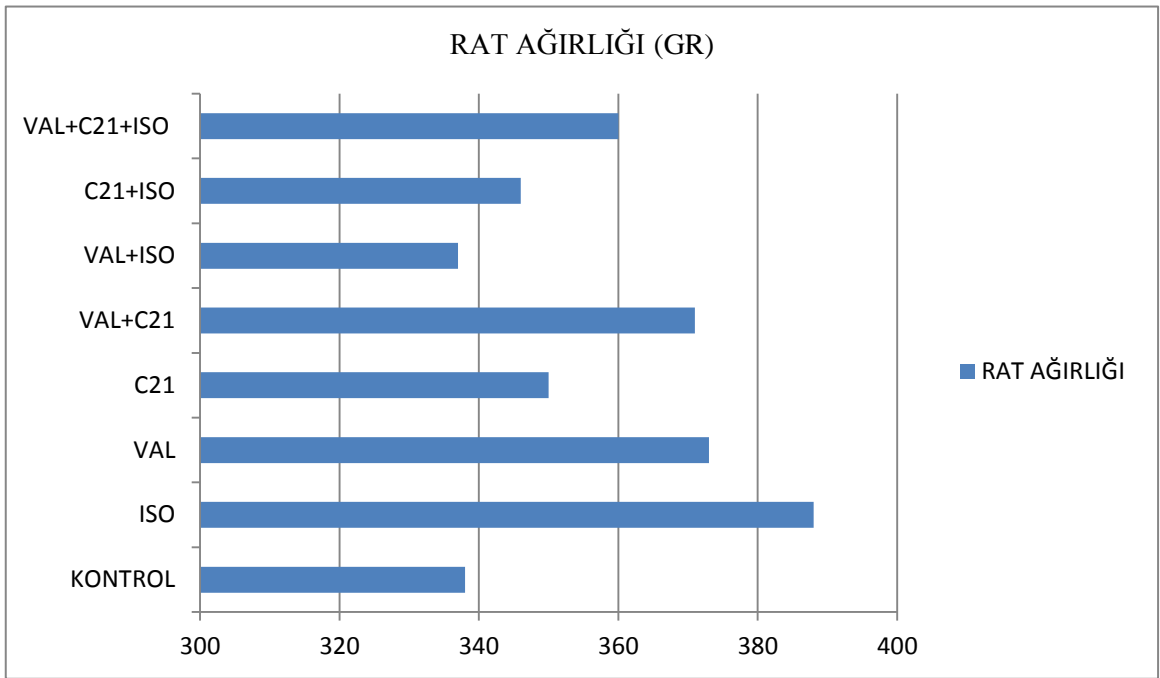
Histopatolojik bulgular için istatistiksel analizler, SPSS istatistiksel yazılım programı (SPSS for Windows version 17) ile yapıldı. Gruplar arası karşılaştırmalar için Mann-Whitney U testi kullanıldı. Bütün veriler med (min-max) olarak ifade edildi. $P < 0.05$ anlamlı olarak kabul edildi.

4. BULGULAR

4.1. Deney Hayvanlarının Özellikleri

4.1.1. Deney Öncesi Ortalama Rat Ağırlıkları

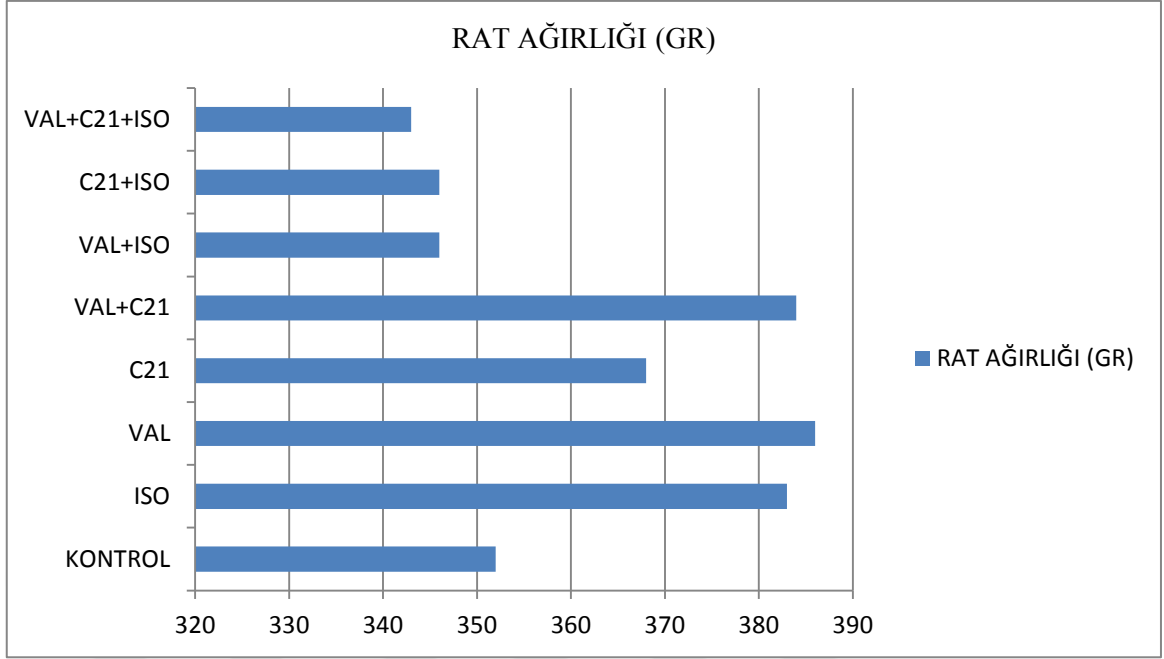
Grup 1 (kontrol) için 338,8 gr, Grup 2 (ISO) için 388,3 gr, Grup 3 (VAL) için 373,3 gr, Grup 4 (C21) için 350,5 gr, Grup 5 (VAL+C21) için 371,8 gr, Grup 6 (VAL+ISO) için 337 gr, Grup 7(C21+ISO) için 346 gr, Grup 8 (VAL+C21+ISO) için 360,5 gr olarak ölçüldü.



Şekil 4.1. Deney Öncesi Ortalama Rat Ağırlıkları

4.1.2. Deney sonrası ortalama rat ağırlıkları

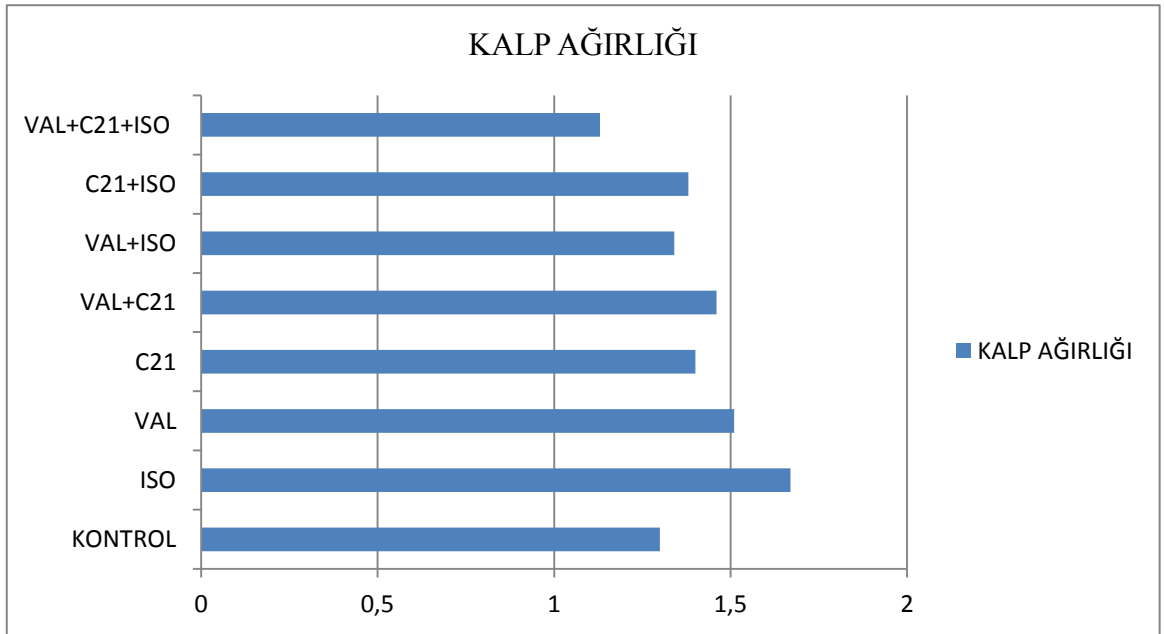
Grup 1 (kontrol) için 352,3 gr, Grup 2 (ISO) için 383,3 gr, Grup 3 (VAL) için 386,8 gr, Grup 4 (C21) için 368,7 gr, Grup 5 (VAL+C21) için 384,1 gr, Grup 6 (VAL+ISO) için 346,7 gr, Grup 7(C21+ISO) için 346,1 gr, Grup 8 (VAL+C21+ISO) için 343,5 gr olarak ölçüldü.



Şekil 4.2. Deney sonrası ortalama rat ağırlıkları

4.1.3. Ratların deney sonrası ortalama kalp ağırlıkları

Grup 1 (kontrol) için 1,30 gr, Grup 2 (ISO) için 1,67 gr, Grup 3 (VAL) için 1,51 gr, Grup 4 (C21) için 1,4 gr, Grup 5 (VAL+C21) için 1,46 gr, Grup 6 (VAL+ISO) için 1,34 gr, Grup 7(C21+ISO) için 1,38 gr, Grup 8 (VAL+C21+ISO) için 1,13 gr olarak ölçüldü.



Şekil 4.3. Ratların deney sonrası ortalama kalp ağırlıkları (gr)

4.2. Kalp Hızı, Ortalama Kan Basıncı ve EKG Değişiklikleri

Ratların cerrahi işlem öncesi tespit edilen kalp hızları değerleri incelendiğinde;

Kontrol Grubunda; 320.5 (309-429) atım/dk, ISO grubunda; 360 (280-370) atım/dk, VAL grubunda; 340 (284-370) atım/dk, C21 grubunda 323(200-384) atım/dk, VAL+C21 grubunda; 361 (300-380) atım/dk, VAL+ISO grubunda 375(280-390) atım/dk, C21 + ISO grubunda 309(300-350) atım/dk, VAL+C21+ISO grubunda 320(300-360) atım/dk olarak tespit edilmiştir. P=0.217 olup gruplar arasında istatistiksel anlamlı fark tespit edilmemiştir.

Ratların cerrahi işlem öncesi ölçülen ortalama kan basıncı değerleri incelendiğinde;

Kontrol grubunda; 58(50-74) mmHg, ISO grubunda 80(57-98) mmHg, VAL grubunda; 48 (35-77) mmHg, C21 grubunda; 62 (38-78) mmHg, VAL+C21 grubunda; 55(38-64) mmhg, VAL+ISO grubunda; 76(54-88) mmhg, C21+ISO grubunda 68(50-80) mmhg, VAL+C21+ISO grubunda 64(55-80) mmhg olarak ölçülmüştür. p=0.004 olup gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark tespit edilmiştir.

4.3. EKG Bulguları

Ratların cerrahi işlem öncesi çekilen EKG'leri incelendiğinde;

Kontrol grubunda; PR mesafesinin 40 (34-44) ms, QRS mesafesinin 50(48-52) ms, QT mesafesinin ise 90 (82-96) ms olarak hesaplanmıştır.

ISO grubunda; PR mesafesinin 40 (30-44) ms, QRS mesafesinin 48(48-56) ms, QT mesafesinin ise 102 (92-108) ms olarak hesaplanmıştır.

VAL grubunda; PR mesafesinin 40 (34-44) ms, QRS mesafesinin 44(36-56) ms, QT mesafesinin ise 84 (70-110) ms olarak hesaplanmıştır.

C21 grubunda; PR mesafesinin 48 (44-62) ms, QRS mesafesinin 78(50-84) ms, QT mesafesinin ise 122 (76-140) ms olarak hesaplanmıştır.

VAL+C21 grubunda; PR mesafesinin 44 (34-50) ms, QRS mesafesinin 54(40-70) ms, QT mesafesinin ise 96 (78-102) ms olarak hesaplanmıştır.

VAL+ISO grubunda; PR mesafesinin 48 (42-54) ms, QRS mesafesinin 50(44-52) ms, QT mesafesinin ise 84(74-96) ms olarak hesaplanmıştır.

C21+ISO grubunda; PR mesafesinin 48 (40-58) ms, QRS mesafesinin 55(48-60) ms, QT mesafesinin ise 92 (80-100) ms olarak hesaplanmıştır.

VAL+C21+ISO grubunda; PR mesafesinin 48 (34-56) ms, QRS mesafesinin 48(40-86) ms, QT mesafesinin ise 90 (74-120) ms olarak hesaplanmıştır.

PR mesafesi; VAL+C21, VAL+ ISO, C21+ISO ,C21+VAL+ISO gruplarında kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı derecede uzamıştır.(p=0.0001)

QRS mesafesi; C21 grubunda kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı derecede uzamıştır.(p=0.009)

QT mesafesi; ISO ve C21 gruplarında kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı derecede uzamıştır.(p=0.014)

Tablo 4.1.Gruplar Arasındaki EKG Değişikliği

Gruplar	ARİTMİ	ST	T	İLETİ
		DEPRESYONU	NEGATİFLİĞİ	BLOĞU
Kontrol (n=7)	0	0	0	1
ISO(n=7)	1	5	5	0
VAL (n=7)	0	0	0	1
C21 (n=7)	0	0	0	5
VAL+C21(n=7)	0	0	0	0
VAL+ISO (n=7)	1	1	2	0
C21+ISO(n=7)	0	0	2	1
VAL+C21+ISO(n=7)	0	0	2	1

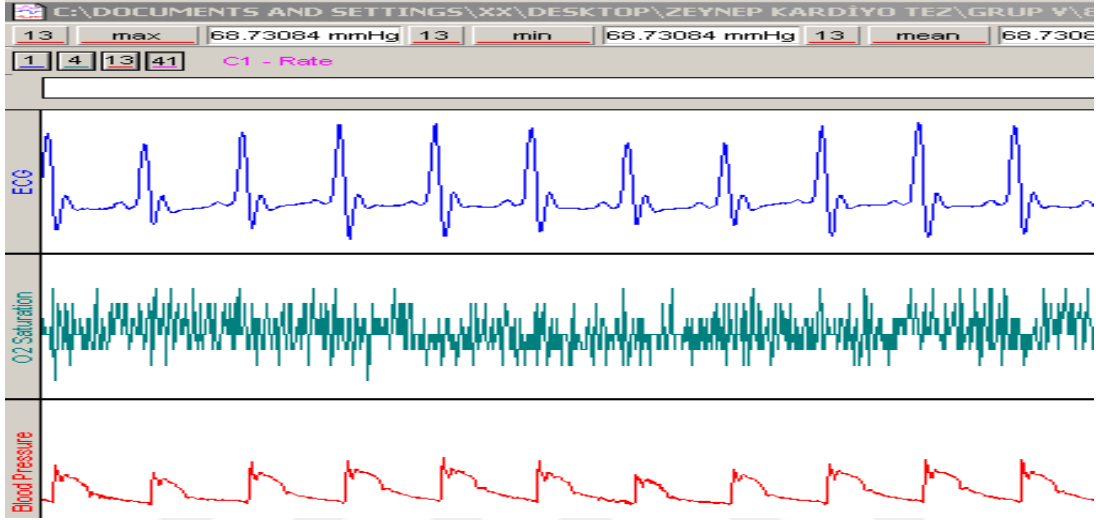
ISO: İsopterenol VAL: Valsartan C21: Compound 21

Aritmi açısından gruplar arasında istatistiksel olarak fark yoktur. ISO ve VAL+ISO grubunda birer ratda ventriküler ekstrasistol izlendi. Pearson Chi-Square Testi p=0.99

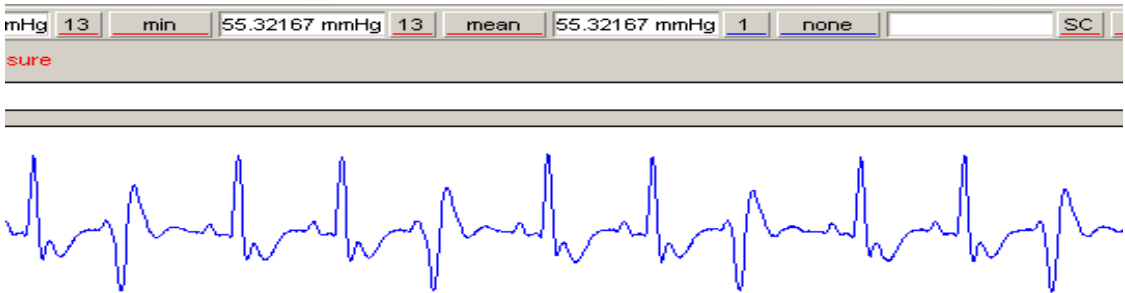
ST depresyonu varlığı açısından gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark vardı. ISO grubunda 5 ratda ST depresyonu izlendi. (Pearson Chi-Square Testi p<0.0001)

T negatifliği açısından gruplar arasında istatikselsel olarak anlamlı fark vardır. ISO grubunda 5 ratda T negatifliği izlendi. (Pearson Chi-Square Testi $p=0.006$)

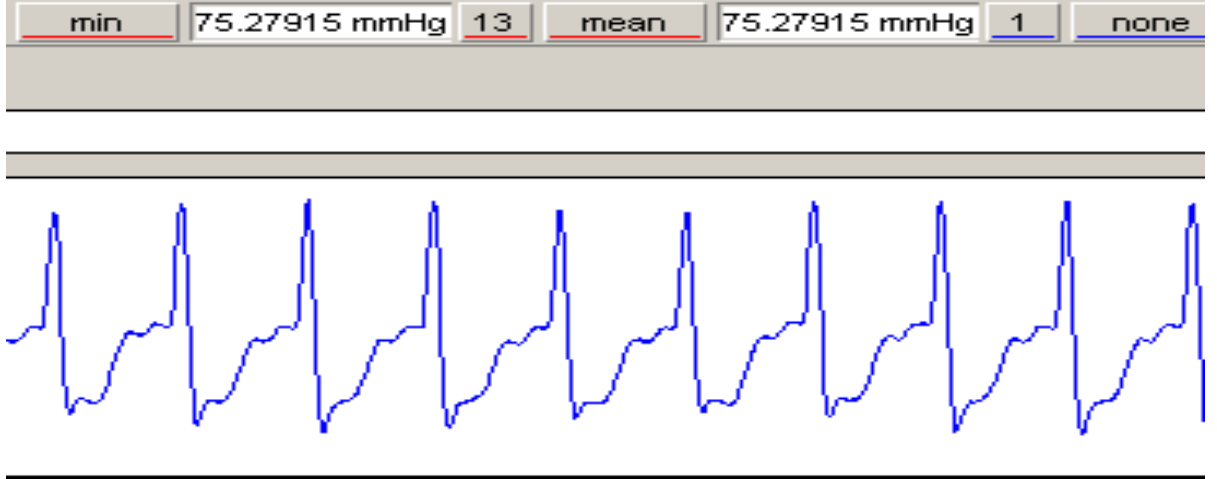
Dal bloğu açısından gruplar arasında istatikselsel olarak anlamlı fark vardır.C21 grubunda 5 ratda dal bloğu izlendi.



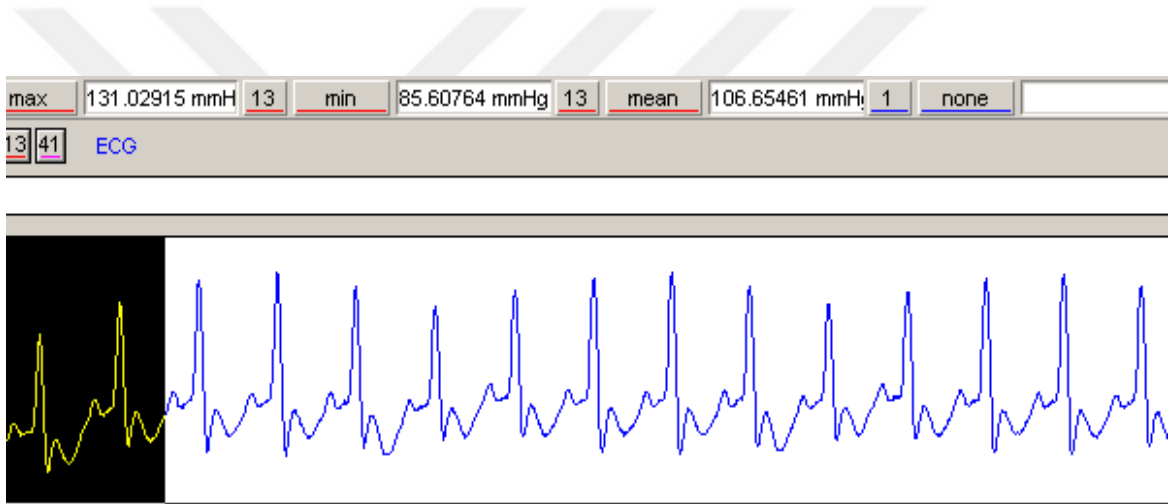
Şekil 4.4. Ratlarda normal ekg ve kan basıncı kaydı görüntüsü



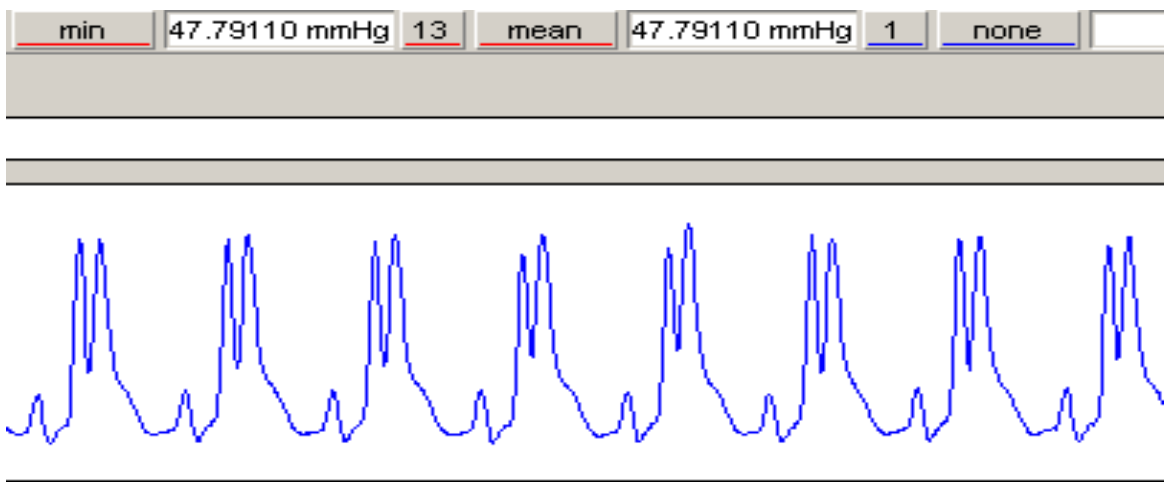
Şekil 4.5. Rat Ekg sinde Ventriküler Ekstrasistol Görüntüsü



Şekil 4.6. Rat EKG sinde ST Depresyonu



Şekil 4.7. Rat EKG sinde T negatifliği



Şekil 4.8. Rat EKG sinde dal bloğu

Tablo 4.2. Grupların kalp hızı, kan basıncı ortanca(min-max) ve p değeri

Değişkenler	Gruplar								p
	Kontrol (n=7)	ISO (n=7)	VAL (n=7)	C21 (n=7)	VAL_C21 (n=7)	VAL_ISO (n=7)	C21_ISO (n=7)	VAL_C21_ISO (n=7)	
Kalp Hızı (atım/dk)	320.5(309-429)	360(280-370)	340(284-370)	323(200-384)	361(300-380)	375(280-390)	309(300-350)	320(300-360)	0.217
KB sistolik(mmHg) (Ortanca (Min-Maks))	110.5 ^{d,f} (100-121)	124 ^{b,c,d,e,f,g} (97-130)	97 (80-115)	85 (60-125)	85 (70-116)	103 (70-108)	90 (70-120)	86 (70-120)	0.029
KB ortalama(mmHg) (Ortanca (Min-Maks))	58 ^{a,e} (50-74)	80 ^{b,c,d} (57-98)	48 ^{e,f} (35-77)	62 ^e (38-78)	55 ^{e,f,g} (38-64)	76(54-88)	68(50-80)	64(55-80)	0.004
KB diastolik(mmHg) (Ortanca (Min-Maks))	42.5(30-60)	58 ^{b,c,d} (38-74)	25 ^{e,f,g} (20-52)	40 ^{e,g} (21-55)	35 ^{e,f,g} (25-55)	60(40-78)	54(40-60)	54(43-67)	0.002

a: ISO'ya göre farklıdır, b: Vale göre farklıdır, c: C21'e göre farklıdır, d: VAL+C21'e göre farklıdır, e: VAL+ISO'ya göre farklıdır, f: C21+ISO'ya göre farklıdır, g:VAL+C21+ISO'ya göre farklıdır.

Tablo 4.3. Grupların PR, QRS ve QT mesafelerinin ortanca(min-max) ve p değeri:

Değişkenler	Gruplar								p
	Kontrol (n=7)	ISO (n=7)	VAL (n=7)	C21 (n=7)	VAL_C21 (n=7)	VAL_ISO (n=7)	C21_ISO (n=7)	VAL_C21_ISO (n=7)	
PR mesafesi	40 ^{d,e,f,g} (34-44)	40 ^{c,e,f,g} (30-44)	40 ^{d,e,f,g} (34-44)	48(44-62)	44(34-50)	48(42-54)	48(40-58)	48(34-56)	0.000
QRS mesafesi	50 ^c (48-52)	48 ^{c,d} (48-56)	44 ^{c,d} (36-56)	78 ^{e,g} (50-84)	54(40-70)	50(44-52)	55(48-60)	48(40-86)	0.009
QT mesafesi	90 ^{a,c} (82-96)	102 ^{b,e,g} (92-108)	84 ^c (70-110)	122 ^{e,f,g} (76-140)	96(78-102)	84(74-96)	92(80-100)	90(74-120)	0.014

a: ISO'ya göre farklıdır, b: VAL'e göre farklıdır, c: C21'e göre farklıdır, d: VAL+C21'e göre farklıdır, e: VAL+ISO'ya göre farklıdır, f: C21+ISO'ya göre farklıdır, g:VAL+C21+ISO'ya göre farklıdır.

4.4. EKO Bulguları

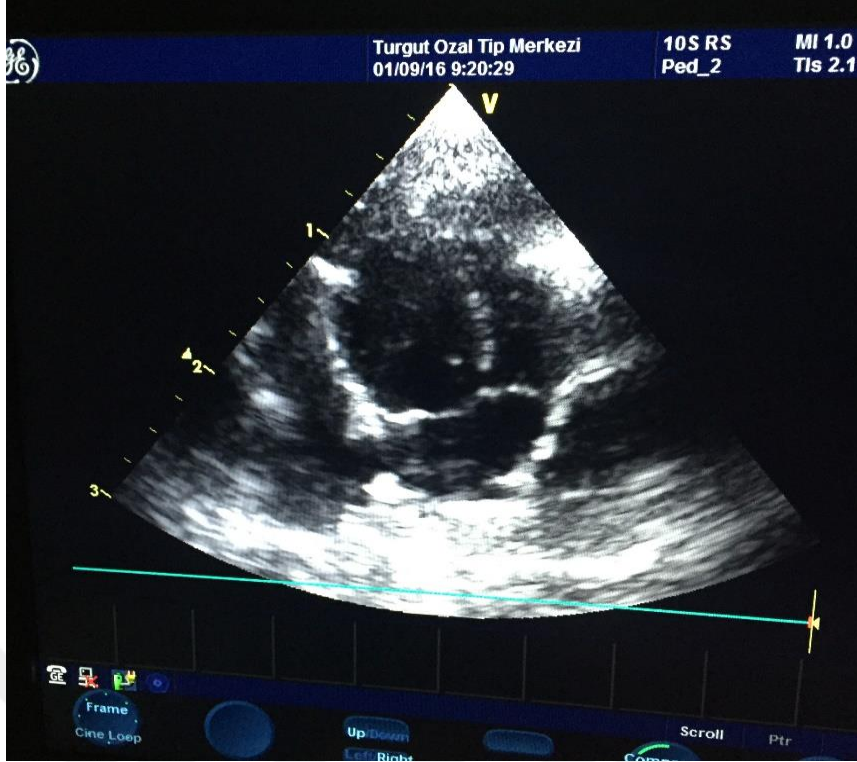
Deney sonrası uygulanan transtorasik ekokardiyografi bulguları tabloda verilmiştir. İsoproterenol uygulanan grupta deney öncesi ve sonrası ekokardiyografi bulguları karşılaştırıldığında; istatistiksel açıdan anlamlı derecede sol ventrikül ejeksiyon fraksiyonunda ve fraksiyonel kısalmada düşme, sol ventrikül diastol ve sistol sonu volümde azalma oldu. ($p<0.05$) Böylece isoproterenol 180 mg/kg subkutan uygulaması ile kalp yetersizliği oluşumunu doğruladık. C21 ve valsartan ve her ikisinin kombine kullanımı ejeksiyon fraksiyonu ve fraksiyonel kısalmayı anlamlı derecede yükseltti ($p=0.0001$, $p=0.0001$). Aynı zamanda yine bu üç tedavide hem LVIDd hem de LVIDs yi düşürdü. ISO uygulaması ile E/A oranında artış, EDT değerinde azalma oldu ancak değerler istatistiksel olarak diyastolik disfonksiyon açısından anlamlı bulunmadı. Aynı şekilde C21 tedavisi alan grupta E/A oranı düştü, EDT yükseldi ancak istatistiksel açıdan anlamlı bulunmadı. Yani diastolik fonksiyon üzerine anlamlı etki gözlenmedi. ($p=0.87$, 0.11)

Tablo 4.4. Grupların transtorasik ekokardiyografi değişikliklerinin ortanca(min-max) ve p değeri

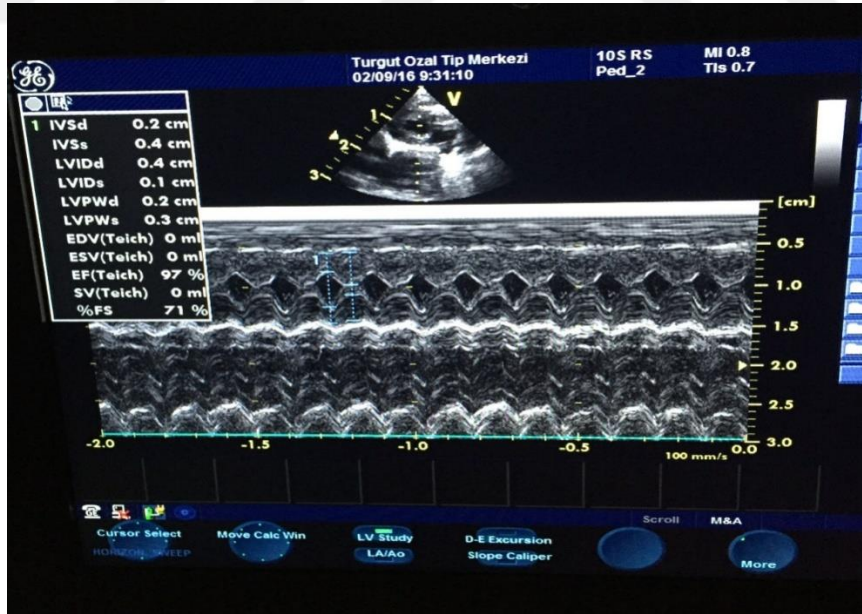
Gruplar

Değişkenler	Kontrol	ISO	VAL+ISO	C21 + ISO	C21 + VAL + ISO	P değeri
LVEF %	85 (75-92)	66 (55-76)	88 (76-95)	88 (86-92)	91 (83-95)	P = 0,0017
LVFS %	48 (39-60)	30 (24-40)	51 (39-64)	56 (50-60)	60 (47-62)	P = 0,0009
LVIDd	6.0 (6.0-8.0)	7.0 (7.0-8.0)	6.0 (5.0-7.0)	6.0 (5.0-7.0)	6.0 (5.0-8.0)	P = 0,0089
LVIDs	3.0 (2.0-4.0)	4.0 (4.0-5.0)	2.5 (2.0-4.0)	3.0 (2.0-3.0)	2.0 (2.0-4.0)	P = 0,0017
E/A	1.9 (1.7-3.8)	2.8 (1.2-4.6)	2.8 (1.7-3.9)	2.1 (1.3-3.3)	2.6 (1.6-3.3)	P = 0,8711
EDT	44 (30-48)	30 (26-37)	37 (30-48)	44 (30-59)	52 (26-59)	P = 0,1101

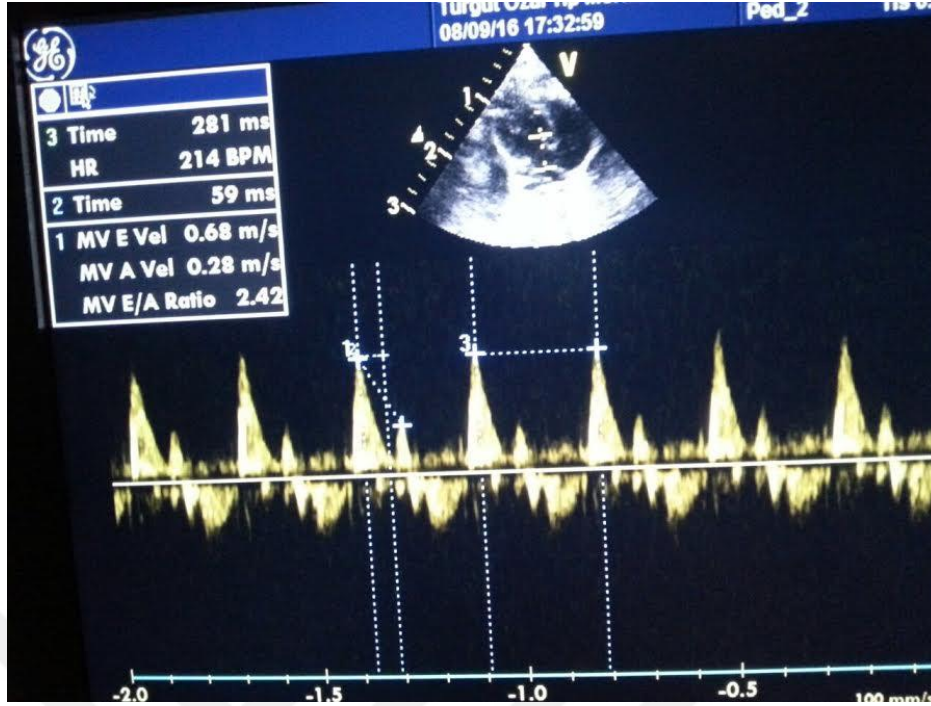
E/A: Erken (E) ve geç atrial (A) ventriküler dolunum velositesi EDT: E dalgası deselerasyon zamanı LVEF: Sol ventrikül ejeksiyon fraksiyonu LVFS: Sol ventrikül Fraksiyonel kısalma LVIDd: sol ventrikül diastol sonu çapı LVIDs: sol ventrikül sistol sonu çapı



Resim 4.1. Ratlarda apikal dört boşluk transtorasik ekokardiyografi görüntüsü



Resim 4.2. Rat ekokardiyografisi MMode görüntüsü



Resim 4.3. Ratlarda mitral kapak E/A oranı EDT ve kalp hızı ölçümü ekokardiyografi görüntüsü

4.5. Histolojik Bulgular

4.5.1. Miyokardiyal Dokunun Genel Morfolojisi

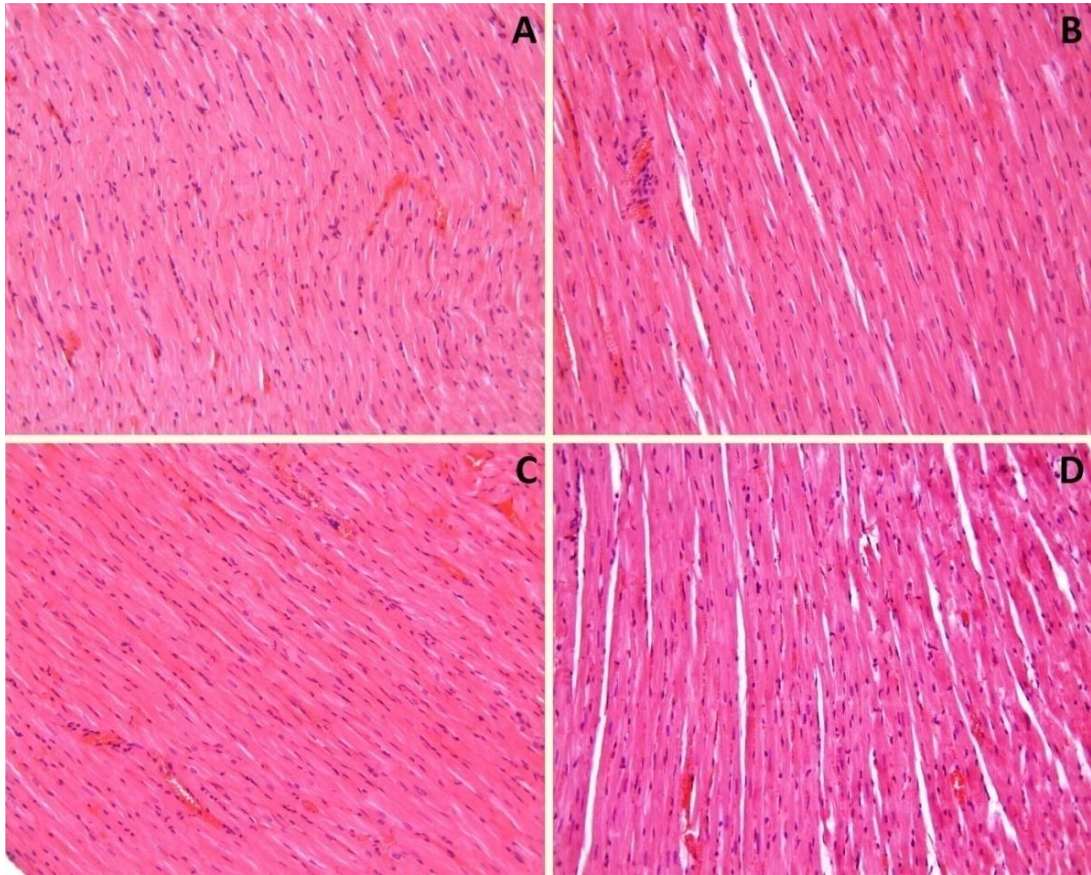
Kontrol grubuna ait kalp dokusu kesitleri, normal histolojik görünümdeydi (Resim 1. A). Sham gruplarına (VAL, C21 ve VAL+C21) ait kesitler, hafif düzeydeki değişiklikler dışında, kontrol grubuna benzer olarak izlendi (Resim 1. B, C ve D).

ISO grubunda, miyokardiyumda dejeneratif değişiklikler izlendi. Bu değişiklikler arasında en dikkat çekici olanı granülasyon dokusunun varlığıydı (Resim 2. A). Bu gruba ait bazı kesitlerde, miyokardiyal dokunun yerini, yer yer granülasyon dokusunun aldığı izlendi. ISO grubunda izlenen diğer belirgin histopatolojik değişiklikler dejenere kardiyomiyosit yoğunluğunda artış ve interstisyel ödemdi (Resim 2. A ve B). Histopatolojik skorlamalar sonucunda, kontrol grubu ile ISO grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı derecede fark tespit edildi ($p<0.05$).

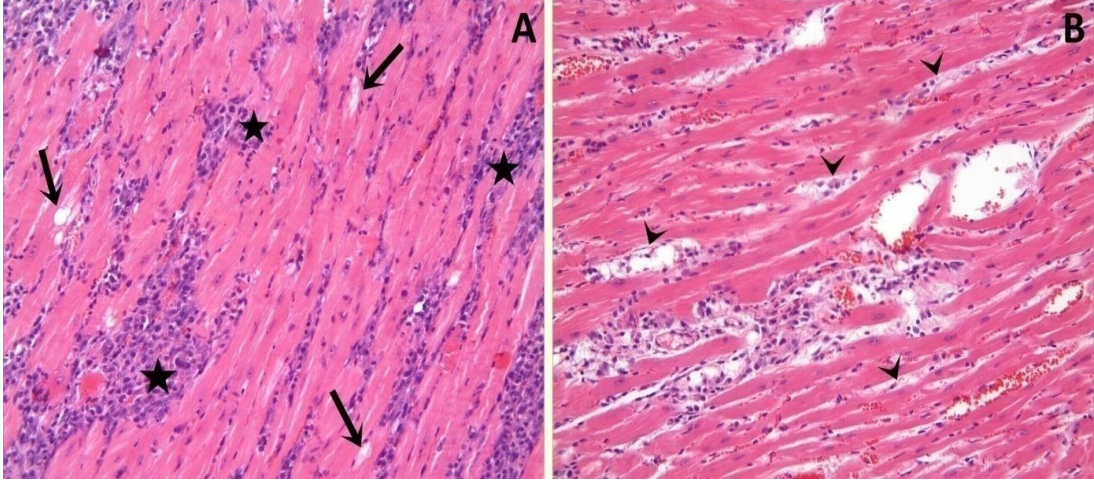
Valsartan uygulanan ISO grubunda, granülasyon dokusunun, interstisyel ödem ve dejenere kardiyomiyosit yoğunluğunda artışın devam ettiği izlendi (Resim 3. A ve B). İstatistiksel olarak da, ISO ve VAL+ISO grupları birbirine benzer bulundu ($p>0.05$). Buna karşın, C21 uygulanan ISO grubunda histopatolojik değişikliklerin, sadece ISO uygulanan grupla karşılaştırıldığında, istatistiksel olarak anlamlı derecede azaldığı tespit edildi ($p<0.05$) (Resim 3. C ve D). VAL+C21+ISO grubuna ait kesitlerde ise, ISO

grubu ile karşılaştırıldığında, interstisyel ödemde istatistiksel olarak anlamlı derecede azalma izlenirken ($p<0.05$), diğer dejeneratif değişikliklerdeki azalmanın anlamlı olmadığı tespit edildi ($p>0.05$) (Resim 3. E ve F). Diğer yandan VAL, C21 ve VAL+C21 uygulanan tedavi grupları karşılaştırıldığında, histolojik yapının korunmasında tek başına C21 uygulamasının daha etkili olduğu izlendi

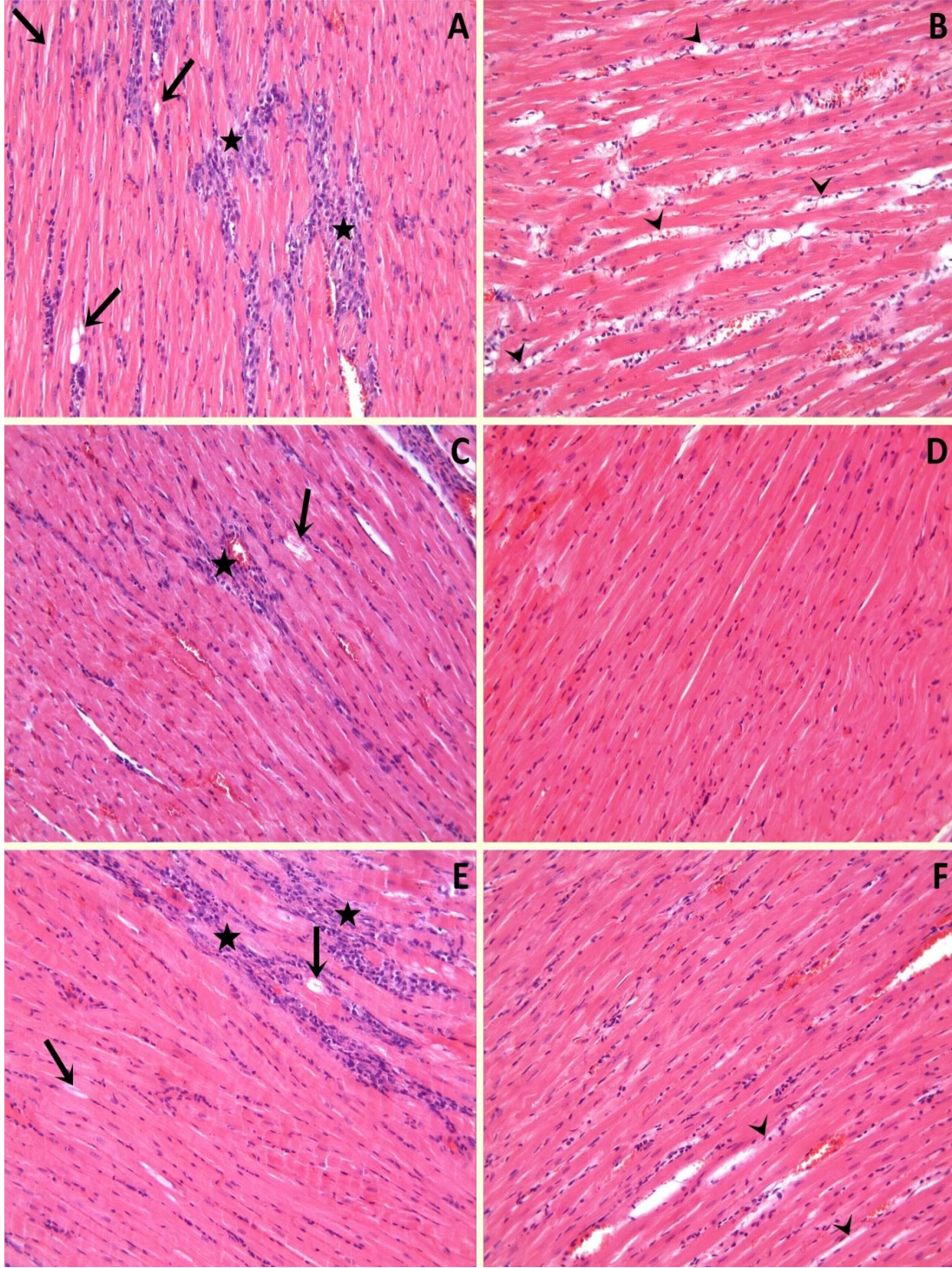
Grupların histopatolojik değerlendirme sonuçları tablo 1’de, gruplar arası P değerleri tablo 2’de verilmiştir.



Resim 4.4. Miyokardiyal dokunun normal histolojik görünümü. **A; kontrol, B; VAL, C; C21 ve D; VAL+C21** grupları. H-E x20.



Resim 4.5. ISO Grubu. **A;** miyokardiyumda yoğun granülasyon dokusu (yıldızlar) ve dejenere kardiyomiyositler (oklar), **B;** intertisyel ödem (ok başları) izleniyor. H-E x20.

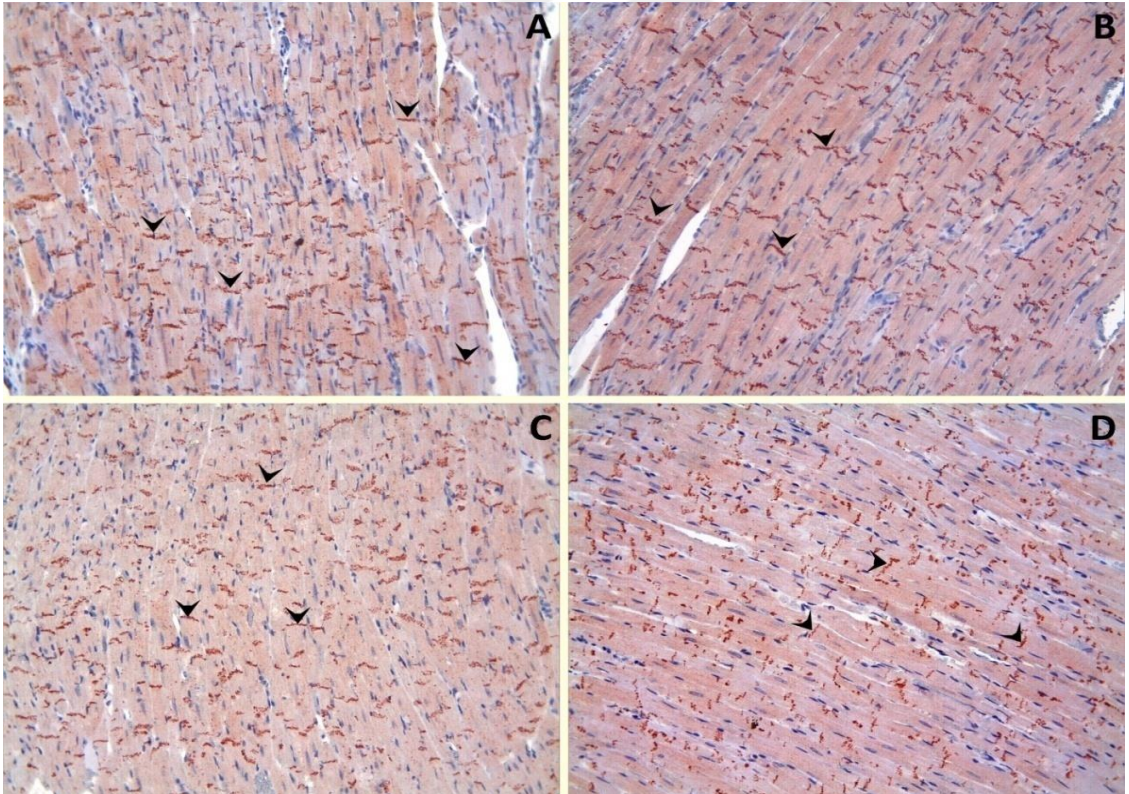


Resim 4.6. ISO+VAL grubu (A ve B); miyokardiyumda yoğun granülasyon dokusu, dejenere kardiyomiyositler ve interstisyel ödem izlenmekte. **ISO+C21 grubu (C ve D);** miyokardiyal dokuda histopatolojik değişikliklerin belirgin düzeyde azaldığı dikkat çekmekte. **VAL+C21+ISO grubu (C ve D);** interstisyel ödemde azalmanın olduğu ancak diğer değişikliklerin devam ettiği izlenmekte. Yıldızlar granülasyon dokusunu, oklar dejenere kardiyomiyositleri, ok başları interstisyel ödemi işaret etmekte. H-E X20.

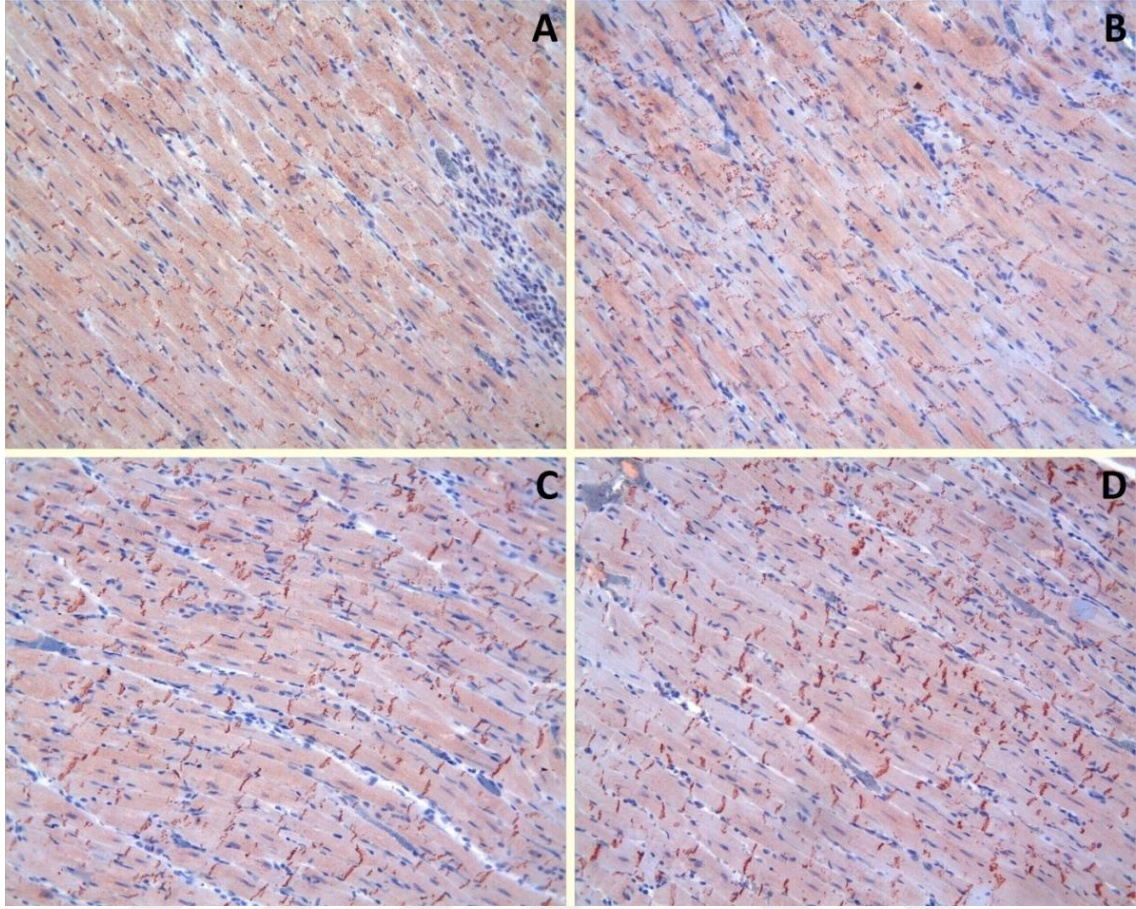
4.5.2. Konneksin-43 Ekspresyonu

Kardiyomiyositlerin uzun eksenine paralel olan düzlemde, konneksin-43 başlıca interkalat disklerde yerleşim göstermekteydi. Analizler sonucunda, kontrol ve sham gruplarında, interkalat disklerdeki konneksin-43 ekspresyonunun birbirine benzer düzeyde olduğu tespit edildi ($p>0.05$). Diğer yandan, ISO grubuna ait kesitlerde konneksin-43 ekspresyonunda, kontrol grubuna göre istatistiksel olarak önemli düzeyde azalma saptandı ($p<0.05$). Konneksin-43 ekspresyonundaki bu azalmanın, VAL uygulanan ISO grubunda devam ettiği, ISO ve VAL+ISO gruplarının istatistiksel olarak birbirine benzer olduğu izlendi ($p>0.05$). Bununla birlikte, C21 ve C21 ile VAL'ın kombine verildiği ISO gruplarında, konneksin-43 ekspresyonunun, sadece ISO uygulanan gruba göre arttığı ve bu artışın istatistiksel olarak anlamlı olduğu tespit edildi ($p<0.05$). Diğer yandan bu iki grup arasında istatistiksel olarak bir fark bulunmadı ($p>0.05$).

Grupların konneksin-43 değerlendirme sonuçları tablo 1'de, gruplar arası P değerleri tablo 2'de verilmiştir.



Resim 4.7. Kardiyomiyositlerin uzun eksenine paralel düzlemde, interkalat disklerdeki konneksin-43 reaktivitesi (ok başları) izleniyor. **A;** kontrol, **B;** VAL, **C;** C21 ve **D;** VAL+C21 grupları, x20.



Resim 4.8. İnterkalat disklerdeki konneksin-43 reaktivitesinin **A (ISO)** ve **B (ISO+VAL)** gruplarında azaldığı, **C (C21+ISO)** ve **D (VAL+C21+ISO)** gruplarında belirgin olarak arttığı izleniyor, x20.

Tablo 4.5. Grupların histopatolojik ve konneksin-43 değerlendirme sonuçları (med (min-max)).

	Granülasyon Dokusu	İnterstisyel Ödem	Dejenere Kardiyosit	Konneksin-43 Ekspresyon kaybı
Kontrol	0.0 (0.0-0.0)	0.0 (0.0-2.0)	0.0 (0.0-2.0)	1.0 (0.0-2.0)
ISO	1.0 (0.0-3.0)	1.0 (0.0-3.0)	1.0 (0.0-3.0)	2.0 (0.0-3.0)
VAL	0.0 (0.0-1.0)	0.0 (0.0-2.0)	0.0 (0.0-2.0)	0.0 (0.0-2.0)
C21	0.0 (0.0-1.0)	0.0 (0.0-3.0)	0.0 (0.0-2.0)	1.0 (0.0-2.0)
VAL+C21	0.0 (0.0-1.0)	0.0 (0.0-3.0)	0.0 (0.0-2.0)	1.0 (0.0-2.0)
İSO+VAL	1.0 (0.0-3.0)	0.0 (0.0-3.0)	2.0 (0.0-3.0)	2.0 (0.0-3.0)
İSO+C21	0.0 (0.0-3.0)	0.0 (0.0-3.0)	0.0 (0.0-2.0)	1.0 (0.0-2.0)
İSO+VAL+C21	1.0 (0.0-3.0)	0.0 (0.0-3.0)	1.0 (0.0-3.0)	0.0 (0.0-3.0)

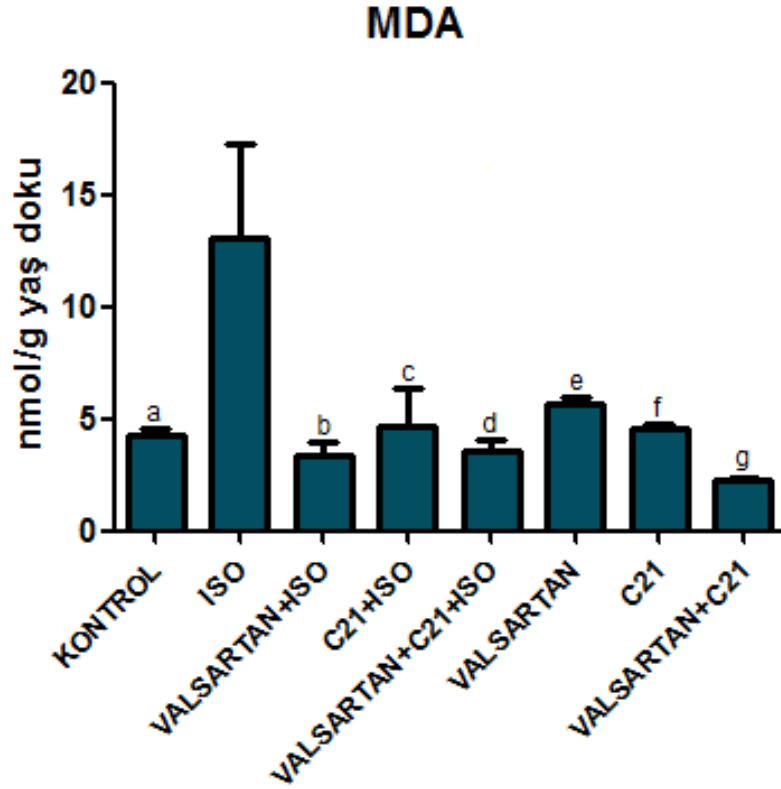
Tablo 4.6. Grupların histopatolojik ve konneksin-43 değerlendirme sonuçları (AO±SD).

	Granülasyon Dokusu	İnterstisyel Ödem	Dejenere Kardiyosit	Konneksin-43 Ekspresyon kaybı
Kontrol	0.00±0.00	0.23±0.50	0.18±0.54	0.58±0.61
ISO	1.30±1.20	0.89±0.96	1.46±1.07	1.42±0.85
VAL	0.03±0.16	0.34±0.69	0.30±0.56	0.62±0.75
C21	0.01±0.12	0.51±0.88	0.17±0.45	0.78±0.79
VAL+C21	0.03±0.17	0.37±0.75	0.50±0.70	0.56±0.58
İSO+VAL	1.17±1.27	0.80±1.06	1.44±1.10	1.52±0.84
İSO+C21	0.70±1.13	0.43±0.75	0.47±0.74	0.80±0.78
İSO+VAL+C21	0.98±1.16	0.56±0.88	1.16±1.04	0.74±0.92

Tablo 4.7. P değerleri.

	Granülasyon Dokusu	İnterstisyel Ödem	Dejenere Kardiyosit	Konneksin-43 Ekspresyonu
Kontrol-VAL	0.219	0.664	0.071	0.966
Kontrol-C21	0.355	0.153	0.738	0.255
Kontrol-VAL+C21	0.189	0.452	0.001	0.919
VAL-C21	0.641	0.286	0.104	0.295
VAL-VAL+C21	0.893	0.720	0.060	0.963
C21-VAL+C21	0.561	0.489	0.001	0.212
ISO-Kontrol	0.000	0.000	0.000	0.000
ISO-ISO+VAL	0.374	0.331	0.977	0.640
ISO-ISO+C21	0.001	0.001	0.000	0.000
İSO- ISO+VAL+C21	0.075	0.016	0.092	0.000
ISO+VAL-ISO+C21	0.012	0.033	0.000	0.000
ISO+VAL-ISO+VAL+C21	0.396	0.168	0.089	0.000
ISO+C21-ISO+VAL+C21	0.066	0.414	0.000	0.495

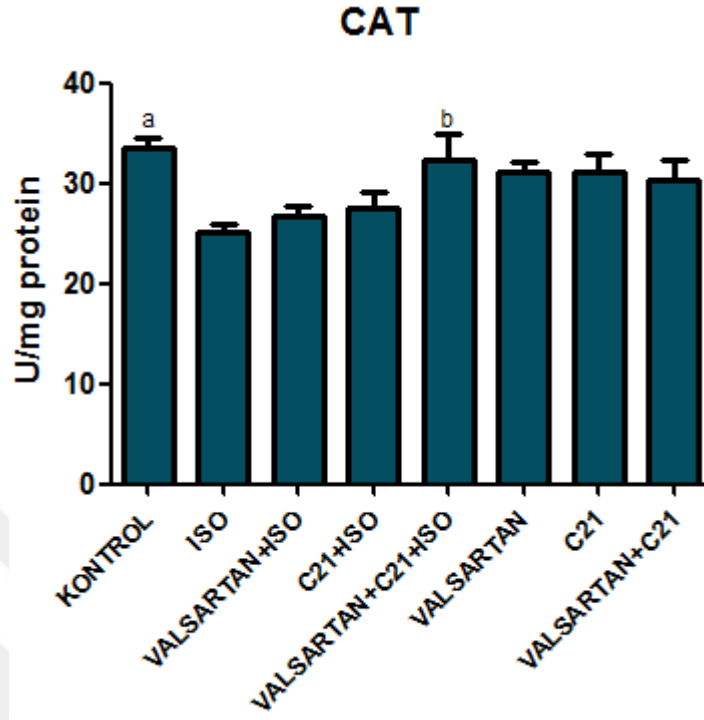
4.6. Biyokimyasal Bulgular



Şekil 4.9. Valsartan ve C21'in ISO hasarına karşı kalp dokusundaki MDA düzeylerine etkisi

- a; Kontrol vs. ISO
- b; ISO vs. Valsartan+ISO
- c; ISO vs. C21+ISO,
- d; ISO vs. Valsartan+C21+ISO
- e; ISO vs. Valsartan
- f; ISO vs. C21
- g; ISO vs. Valsartan+C21

Hücredeki MDA seviyesi lipit peroksidasyonunun önemli bir göstergesidir. Hücrelerdeki artışı oksidatif stres belirtisi olup hücre bütünlüğünün bozulmasını tetikler. Deney sonuçlarına göre ISO grubunda diğer tüm gruplara oranla anlamlı ($p<0.05$) bir lipit peroksidasyonu artışı görülmüştür. Buna karşılık olarak hem Valsartan hem C21 hem de Valsartan+C21 grubunda ISO grubuna göre anlamlı düşüş ($p<0.05$) görülmektedir.

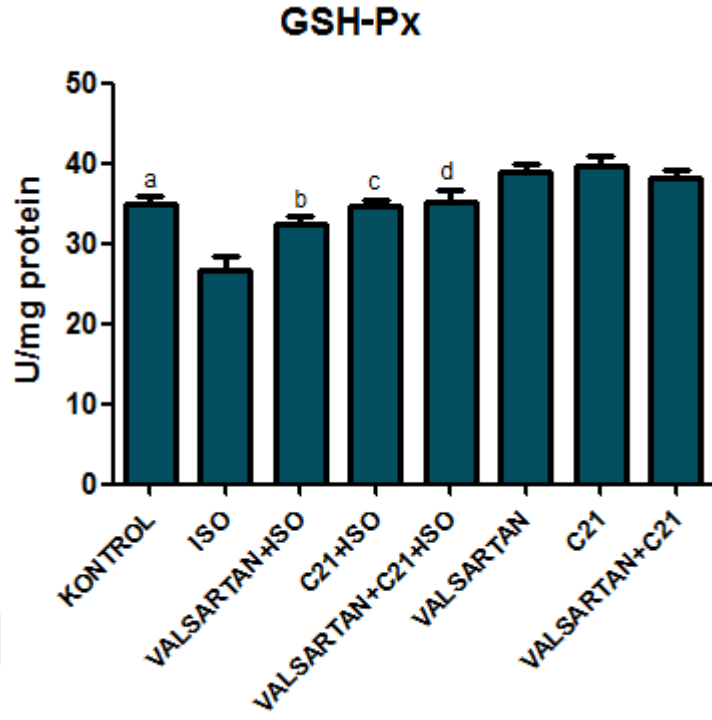


Şekil 4.10. Valsartan ve C21'in ISO hasarına karşı kalp dokusundaki CAT enzim aktivitesi üzerine etkisi

a; Kontrol vs. ISO

b; ISO vs. Valsartan+C21+ISO

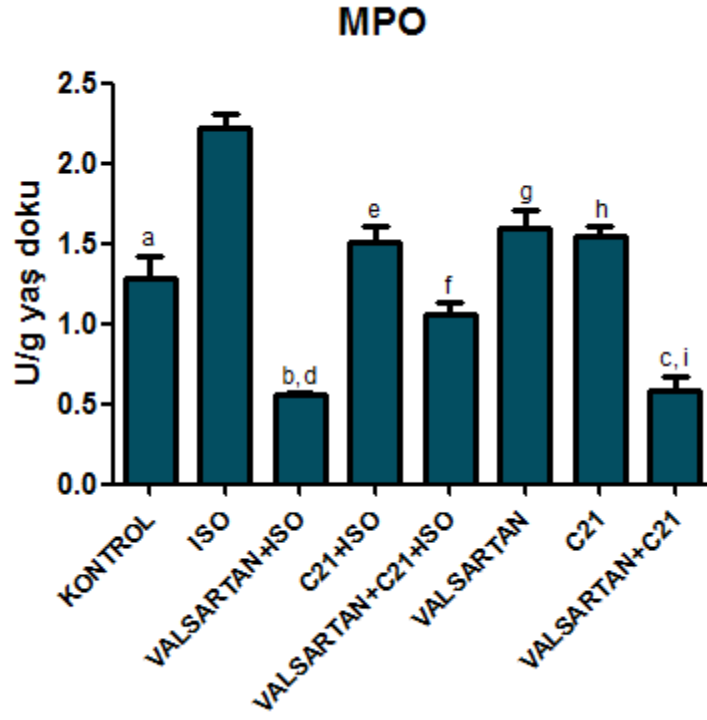
Katalaz organizmada birincil antioksidan savunma enzimlerinden birisidir. Oksidatif hasara bağlı olarak genellikle dokudaki düzeyleri düşmektedir. ISO grubu kontrole göre anlamlı düşüş sergilemiş ($p<0.05$) ancak tedavi gruplarında sadece Valsartan+C21+ISO grubu anlamlı ($p<0.05$) koruyucu etki göstermiştir.



Şekil 4.11. Valsartan ve C21'in ISO hasarına karşı kalp dokusundaki GSH-Px enzim aktivitesi üzerine etkisi

- a; Kontrol vs. ISO
- b; ISO vs. Valsartan+ISO
- c; ISO vs. C21+ISO
- d; ISO vs. Valsartan+C21+ISO

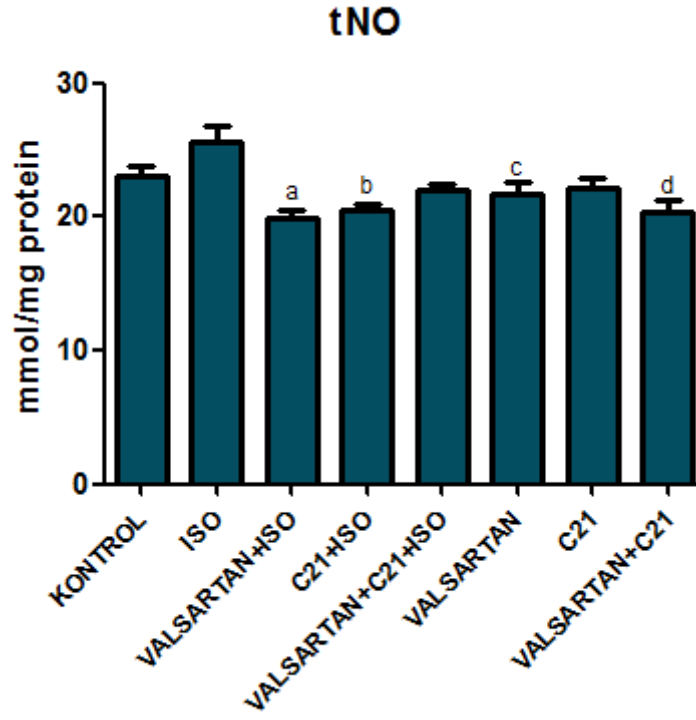
Kalp dokusunda GSH-Px enzim aktivitesinde ISO grubu kontrole göre anlamlı ($p<0.05$) bir düşüş sergilemiştir. Buna karşılık tüm tedavi gruplarının koruyucu etkisi de anlamlı yükseliş ($p<0.05$) değerleriyle görülmektedir.



Şekil 4.12. Valsartan ve C21'in ISO hasarına karşı kalp dokusundaki MPO enzim aktivitesi üzerine etkisi

- a; Kontrol vs. ISO
- b; Kontrol vs. Valsartan+ISO
- c; Kontrol vs. C21+ISO
- d; ISO vs. Valsartan+ ISO
- e; ISO vs. C21+ISO
- f; ISO vs. Valsartan+C21+ISO
- g; ISO vs. Valsartan
- h; ISO vs. C21
- i; ISO vs. Valsartan+C21

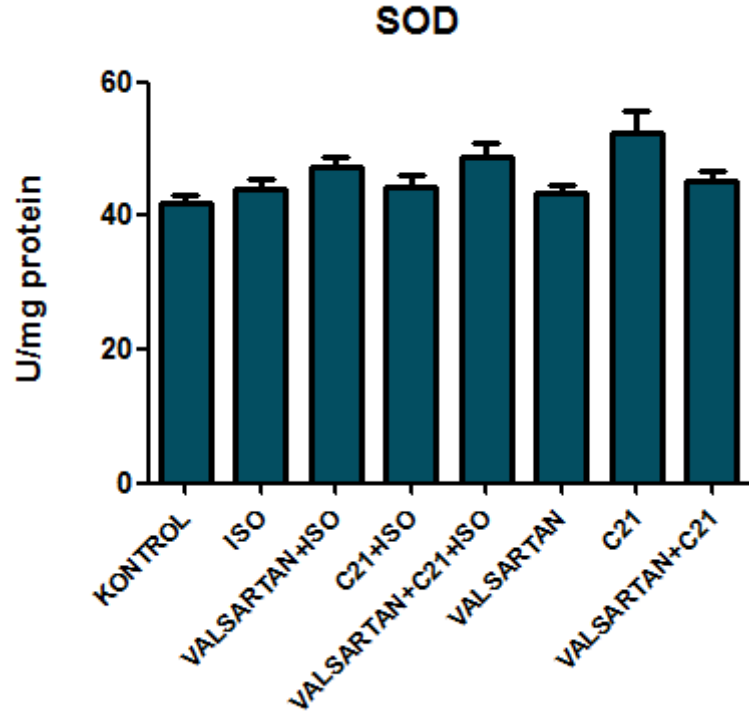
Yüksek MPO düzeyi dokudaki hasar belirtilerini gösteren önemli test sınıfından biridir. Deney sonuçlarımıza göre ISO grubu hem kontrol hem de Valsartan, C21 ve Valsartan+C21 kontrol gruplarına oranla yüksek ($p < 0.05$) MPO düzeyi göstermiştir. Buna karşılık tüm tedavi grupları (Valsartan+ ISO, C21+ISO ve Valsartan+C21+ISO) ISO grubuna kıyasla anlamlı ($p < 0.05$) koruyucu etki göstermiştir.



Şekil 4.13. Valsartan ve C21'in ISO hasarına karşı kalp dokusundaki tNO düzeylerine etkisi

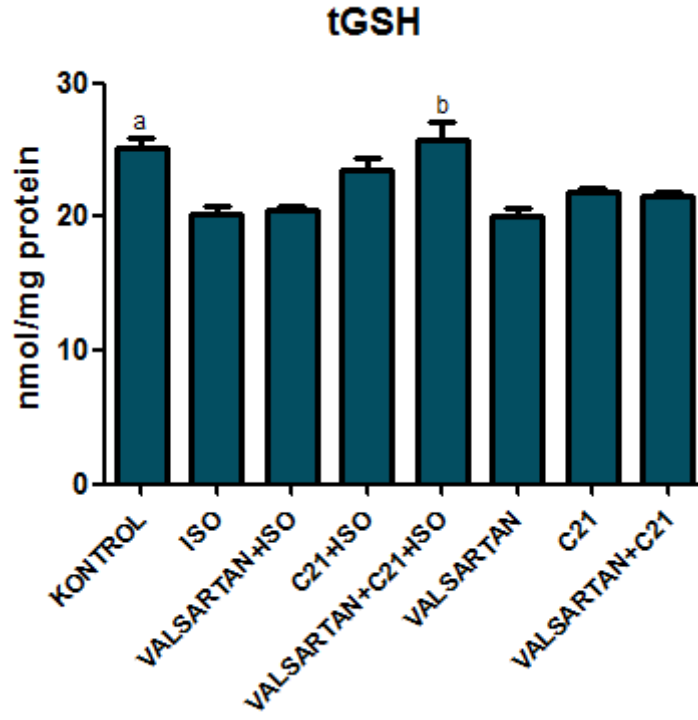
- a; ISO vs. Valsartan+ISO
- b; ISO vs. C21+ISO
- c; ISO vs. Valsartan
- d; ISO vs. Valsartan+C21

NO vazodilatasyon, nörotransmisyon ve antimikrobiyal savunma mekanizmalarında görev alan önemli bir molekül olup doku da fazla oluşması durumunda oksidan özellik göstermektedir. Bu da doğrudan ya da dolaylı olarak doku hasarıyla sonuçlanabilmektedir. Deney sonuçlarına göre ISO grubu Valsartan ve Valsartan+C21 kontrol gruplarına oranla anlamlı olarak ($p<0.05$) yüksek NO seviyesine sahiptir. Buna karşılık Valsartan+ISO ve C21+ISO tedavi grupları ISO grubundan anlamlı olarak düşük ($p<0.05$) NO seviyesi göstermiştir.



Şekil 4.14. Valsartan ve C21'in ISO hasarına karşı kalp dokusundaki SOD enzim aktivitesi üzerine etkisi

Organizmada önemli bir antioksidan savunma enzimi olan SOD; deney sonuçlarımızda anlamlı değişimler göstermemiştir.



Şekil 4.15. Valsartan ve C21'in ISO hasarına karşı kalp dokusundaki tGSH düzeylerine etkisi

a; Kontrol vs. ISO

b; ISO vs. Valsartan+C21+ISO

Glutasyon düzeyi oksidatif stresle ilgili hastalıkların teşhisinde kullanılmaktadır. Deney sonuçlarımızda ISO grubu kontrole göre anlamlı derecede düşük ($p<0.05$) glutasyon seviyesi verirken Valsartan+C21+ISO tedavi grubu ($p<0.05$) muhtemel sinerjistik etkiyle ISO hasarını önemli oranda engellemiştir.

5. TARTIŞMA

Çalışmamızda, sıçanlarda isoproterenol kaynaklı deneysel kalp yetmezliği modelini insan kalp yetmezliği hastalığını taklit etmek için kullandık. Oluşturduğumuz bu modelde Valsartan ve Compound 21 in kardiyoprotektif etkisini ve mekanizmasını araştırdık.

Kalp yetmezliği (KY), dünya çapında yüksek morbidite ve mortaliteye sahip önemli bir klinik sorundur. Yalnızca yaşlılarda değil, gençlerde de en yaygın kardiyovasküler hastalıklardan biri haline gelmiştir (114). Klinik çalışmalarda erkeklerde kabaca %21, kadınlarda %17 gibi beklenen yıllık mortaliteyle ölümcül bir durum olmayı sürdürmektedir(115). KY' yi tedavi etmek için birçok terapötik hedef araştırılmıştır, ancak hala yetersiz kalmaktadır.

İsoproterenol, yayınlanmış birçok araştırmaya göre kalpte hipertrofi ve fibroza neden olarak kardiyak remodeling ve diyastolik fonksiyon bozukluğuna yol açan bir kardiyotoksik ajandır(116). Ayrıca, isoproterenol miyokart dokusunda ciddi miyofibriler dejenerasyona neden olur(117). ISO enjekte edilen deney hayvanları oldukça sitotoksik serbest radikaller üreterek hücre zarında fosfolipit peroksidasyonu yaparak şiddetli hasara yol açar (118).

ISO'nun KY'yi indükleme kapasitesi, farklı dozlar ve uygulama süresi kullanılarak kapsamlı bir şekilde incelenmiştir. Yüksek dozda ISO verilmesi (150-340 mg / kg tek doz veya iki ardışık dozda uygulama) miyosit nekrozu, diyastolik ve sistolik fonksiyonlarda azalma ile sonuçlanmıştır (119).

Çalışmamız, yüksek doz ISO'nun (180 mg / kg / gün) subkutan yolla ardışık iki gün 24 saat ara ile uygulanmasının sistolik parametreleri önemli ölçüde kötüleştirdiğini doğrulamıştır.

Histopatolojik incelememizde ISO grubunda; miyokardiyal dokunun yerini yer yer granülasyon dokusunun alması, dejenere kardiyomiyosit yoğunluğunda artış olması ve interstisyel ödemin varlığı kalp yetmezliği doku bulgularını göstermiştir.

Çalışmamızda kontrol grubuna ait kalp dokusu kesitleri, normal histolojik görünümdeydi. Sham gruplarına (VAL, C21 ve VAL+C21) ait kesitler, hafif düzeydeki değişiklikler dışında, kontrol grubuna benzerdi. VAL + ISO uygulanan grupta,

granülasyon dokusu ISO uygulanan gruba göre azalmış olmasına rağmen anlamlı değildi. C21 uygulanan ISO grubunda histopatolojik değişikliklerin, sadece ISO uygulanan grupla karşılaştırıldığında, anlamlı derecede azaldığı tespit edildi. ($p<0.05$) ISO+VAL+C21 grubuna ait kesitlerde, ISO grubu ile karşılaştırıldığında, interstisyel ödemde anlamlı derecede azalma izlenirken ($p<0.05$), diğer dejeneratif değişikliklerdeki azalmanın anlamlı olmadığı tespit edildi. ($p>0.05$) Diğer yandan VAL, C21 ve VAL+C21 uygulanan gruplar karşılaştırıldığında, histolojik yapının korunmasında tek başına C21 uygulamasının daha etkili olduğu izlendi.

Kaschina ve ark. (120)ratlarda deneysel miyokard infarktüsü oluşturup C21 in farklı dozlarını uygulamış ve ilk kez AT2 reseptör uyarımının infarkt sonrası kardiyak fonksiyonlar üzerine etkisini araştırmışlardır. İki ayrı dozda C21 i (0.03 mg/kg ve 0.3 mg/kg) kandesartan ile karşılaştırmış bir gruba C21 ve kandesartanı kombine uygulamıştır. Bu çalışmada infarkt boyutu manyetik rezonans görüntüleme ile değerlendirilmiş, hemodinamik ölçümler transtorasik ekokardiyografi ve Millar kateteri ile yapılmıştır. Deney sonunda bizim bulgularımıza benzer şekilde gruplar arasında kalp hızı açısından anlamlı fark bulunmazken, bu çalışmada kan basıncı açısından da anlamlı fark bulunmamıştır. MI oluşturulan grupta kontraktilite azalmış, sol ventrikül diastol sonu basıncı artmış, bizdeki TTE bulgularına benzer olarak ejeksiyon fraksiyonu ve fraksiyonel kısalma anlamlı derecede düşmüştür. C21, kandesartan ve C21 + kandesartan uygulanan gruplarda kontraktilite artmış, ejeksiyon fraksiyonu ve fraksiyonel kısalma yükselmiştir. Ancak C21 + kandesartan kombinasyonu C21 monoterapisine üstün bulunmamıştır. C21 in ise etkisinin doz bağımlı olduğu, bizim çalışmamızda da kullandığımız şekliyle 0.03 mg/kg dozunun kardiyak fonksiyonları önemli derecede düzelttiği gösterilmiştir. Mİ sonrası C21 ile direkt AT2 reseptör uyarımının sistolik ve diastolik kalp fonksiyonlarını iyileştirdiği ve Mİ oluşturulmuş diğer gruplara göre daha az bir skar boyutuna neden olduğu bulunmuştur. Mİ sonrası erken fazda kardiyak hücrelerde nekroz ve inflamatuvar yanıt fibroz ve skar doku oluşumunu destekleyip kalp yetmezliğine neden olur. Bu çalışma göstermiştir ki; C21 infarkt sonrası inflamatuvar yanıtı baskılayıp, sitokin salınımını azaltarak kalp yetmezliği gelişimine engel olur. Çalışmamızdan farklı olarak iskemik kalp yetmezliği modeli oluşturulmuş ve C21, Mİ sonrası sol ventrikül remodellingini engellediği bilinen AT 1 reseptör agonisti kandesartan ile karşılaştırılmıştır. Bizim çalışmamızda ise kalp

yetmezliğinden koruyucu etki incelenmiş ve farklı bir AT 1 reseptör antagonisti olan valsartan kullanılmıştır.

Çalışmamızda isoproterenol uygulanan ratlarda deney öncesi ve sonrası yapılan transtorasik ekokardiyografi bulguları karşılaştırıldığında; anlamlı sol ventrikül ejeksiyon fraksiyonu ve fraksiyonel kısalmada düşme, sol ventrikül diastol ve sistol sonu volümde artma oldu. ($p<0.05$) Böylece isoproterenol 180 mg/kg subkutan uygulaması ile kalp yetersizliği oluşumunu doğruladık. C21 ve valsartan ve kombine terapi ejeksiyon fraksiyonu ve fraksiyonel kısalmayı anlamlı derecede yükseltti. ($p=0.0001$, $p=0.0001$) Aynı zamanda yine bu üç tedavide hem LVIDd hem de LVIDs yi düşürdü. ISO uygulaması ile E/A oranında artış, EDT değerinde azalma oldu ancak değerler istatistiksel olarak diastolik disfonksiyon açısından anlamlı bulunmadı. Aynı şekilde C21 tedavisi alan grupta E/A oranı düştü, EDT yükseldi ancak istatistiksel açıdan anlamlı bulunmadı. Yani diastolik fonksiyon üzerine anlamlı etki gözlenmedi. ($p=0.87$, 0.11)

Lauer D ve ark. (121) ratlarda oluşturdukları deneysel miyokard infarktüsü modelinde compound 21 ile selektif AT2 reseptör uyarımının MI sonrası kardiyak remodelingdeki önemini araştırmışlar. Deney sonunda yaptıkları transtorasik ekokardiyografide bizim çalışmamızdakine benzer şekilde C21 in ejeksiyon fraksiyonunu ve fraksiyonel kısalmayı anlamlı şekilde yükselttiğini ($p<0.01$, $p<0.05$) göstermişlerdir. Böylece C21 in sistolik ve diastolik kalp fonksiyonlarını düzelttiğini, MI sonrası sol ventrikül disfonksiyonunu engellediğini ve arterial sertliği azalttığını görmüşlerdir. Ayrıca C21 miyokartta kollajen birikimini ve interstisyel fibroz gelişimini düşürmüştür. Yine bu çalışmada iskemi sonrası kardiyak miyosit ve fibroblastlardan AII AT1 reseptör aracılığıyla sentezlenen profibrotik sitokin olan TGF- β 1 düzeyi incelenmiş. C21 ile AT2 reseptör uyarımının MI sonrası TGF- β 1 salgılanmasındaki artışı engellediğini göstermiştir.

Goyal S. ve ark.'nın (5) 84 rat ile yaptıkları çalışmada ISO 85 mg/kg subkutan verilerek oluşturulan kardiyotoksositeye valsartanın 15,30 ve 60 mg/kg dozlarının oral yolla uygulanmasının koruyucu etkisi araştırılmış. Hemodinamik parametrelerden kan basıncı ile kalp hızı, kalp dokusundan biyokimyasal olarak MDA, GSH, SOD, katalaz, CK MB, LDH bakılmış. Işık mikroskopi altında ise kalp dokusunda miyonekroz, inflamatuvar hücre ve ödem değerlendirilmiş.

Bu çalışmada bizim çalışmamızla benzer olarak ISO kontrol grubunda inflamatuvar hücre infiltrasyonu, ödem ve miyofagositozun eşlik ettiği fokal kas liflerinin nekrozu görülmüştür. 15 mg /kg valsartan verilen grupta ISO kontrol grubu ile benzer morfolojik değişiklikler saptanmıştır. 30 mg/kg valsartan grubunda daha az ödem ve inflamatuvar hücrenin eşlik ettiği miyonekroz görülmüştür. 60 mg/kg valsartan grubunda ise kalp dokusunda, miyokardiyal fibrillerin normal morfolojide olduğu ve infarktın eşlik etmediği orta derecede ödem görülmüştür. Çalışmamızdan farklı olarak Valsartan 60 mg/kg dozunda görülen iyileşmenin nedeni deney süresi ve ilaç dozunun aynı olmamasından kaynaklanmış olabilir.

Bayır Y. ve ark.nın (122)48 rat ile yaptıkları çalışmada ise 180 mg/kg isoproterenol subkutan uygulamasının oluşturduğu kardiyotoksiteye Lacidipin (3 mg/kg), ramipril (3 mg/kg), valsartan 30 mg/kg oral yoldan uygulamasının koruyucu etkisi incelenmiştir. Biyokimyasal çalışma olarak kalp dokusundan SOD, CAT ve MDA seviyelerine bakılmış. Histopatolojik olarak da kalp dokusunda hücre dejenerasyonu ve nekroz, inflamatuvar hücre infiltrasyonu ve interstisyel doku artışı incelenmiş.

Bayır ve ark nın çalışmasında bizdeki bulgularla benzer şekilde ISO verilmeyen gruplarda miyokart dokusu normal morfolojide izlenmiştir. ISO verilen grupta inflamatuvar hücre infiltrasyonu hücre dejenerasyonu ve nekroz yüksek seviyede gözlenmiştir. Lacidipin, ramipril, valsartan +ISO gruplarında ise daha az derecede nötrofil hücre infiltrasyonu ve dejeneratif miyosit izlenmiştir.

Konneksinler, hücreler arası aralık bileşkesi (gap junction) proteinlerdir ve hücrelerin elektriksel olarak birbiriyle ilişkilerini sağlayan hücreler arası kanallardır. İyonlar, küçük moleküller ve hatta kısa peptidler bu kanallardan diğer hücrelere geçebilir. Hücrelerin bağımsız birimler şeklinde değil, eş güdümlü hareket etmelerini sağlarlar. Bunun tipik örneği kalp kası hücreleridir. Buradaki aralık bağlantıları büyük ölçüde kalbin düzenli olarak kasılmasından sorumludur. (123)

Çalışmamızda ISO grubuna ait kesitlerde konneksin-43 ekspresyonunda, kontrol grubuna göre istatistiksel olarak önemli düzeyde azalma saptanırken, C21 ve C21 ile VAL' in kombine verildiği ISO gruplarında, konneksin-43 ekspresyonunun, sadece ISO uygulanan gruba göre anlamlı derecede artması koruyucu etkiyi göstermiştir.($p<0.05$).

Mohamed SS ve arkadaşları bizim bulgularımıza benzer şekilde ratlar üzerinde yaptıkları bir çalışmada ISO uygulanan grupta, connexin-43 ün protein ekspresyonunun anlamlı şekilde azaldığını görmüşlerdir. Böylece miyokard iletiminde ve kontraktilitesinde bozulma olduğunu göstermişlerdir (124).

AT2R eksikliğinin akut miyokard infarktüsünden sonra farelerde kalp yetmezliğini artırdığı ve hayatta kalma oranını düşürdüğü gösterilmiştir (56). Qi Y.ve ark. koroner arter ligasyonu ile indüklenen deneysel bir miyokard enfarktüsü modelinde, AT2R'nin orta düzeyde ekspresyonunun kalbi iskemik hasardan koruduğunu ve kardiyak hipertrofiyi hafiflettiğini bulmuşlardır (125).Miyokard infarktüsü sonrası AT1R ekspresyonu da dahil olmak üzere RAS' ın up regülasyonu, AT2R'nin salgılanmasıyla belirgin derecede zayıflatılmıştır (125). Benzer şekilde, Yang ve ark.'nın ayrı bir çalışmasında farelerde kardiyak selekif AT2R'nin aşırı ekspresyonu miyokard enfarktüsü sonrası sol ventrikül fonksiyonunu önemli ölçüde iyileştirmiştir. Bu çalışmada, yazarlar AT2R aşırı ekspresyonunun sol ventrikül remodelling ve fonksiyonu üzerindeki olumlu etkisinin kalp atış hızı, strok volüm ve sol ventrikül kütlelerinde herhangi bir değişiklik olmadan ortaya çıktığını göstermişlerdir (127).

AT2R aktivasyonu aterosklerozda da koruyucu bir rol sergiler. Önceki çalışmalara uygun olarak, AT2R'nin ekspresyonu, anormal kollajen birikimi, oksidatif stres ve inflamasyonu inhibe ederek aterojenezi belirgin bir şekilde düşürmüştür. Aksine, AT2R'si silinmiş farelerde hızlanmış kardiyak fibrojenesis, disfonksiyon ve ateroskleroz geliştiği bulunmuştur (56).

Çelişkili sonuçlar çok sayıda çalışmada bildirilmiştir. Ang II ve kardiyak hipertrofi deneysel modelinde AT2R ventriküler hipertrofi ve kardiyak fibrozun ilerlemesinde uyarıcı bir etki göstermiştir (127). AT2R'yi aşırı sentezleyen farelerde önemli ölçüde ciddi kardiyak fibroz, kalp yetmezliği (128) ve intrinsik miyosit kontraktil disfonksiyonu geliştiği tespit edilmiştir (129). Matsushita ve arkadaşları yaptıkları çalışmada AT2R'nin zararlı rolü olduğunu belirtmiş, AT2R blokajının vasküler kalsifikasyonu belirgin şekilde inhibe ettiğini göstermişlerdir (130). AT2R'nin genetik silinmesinin veya farmakolojik inhibisyonunun, hiperkolesterolemi ve Ang II ile uyarılan aterosklerozu modüle etmede hiçbir etkisinin olmadığını öne sürmüşlerdir.

Birlikte ele alındığında, AT2R'nin farklı etkilerinin reseptör yoğunluğuna (AT2R / AT1R göreceli oranı) ve bunun sonucunda farklı hücrel sinyal yollarının aktive olmasına bağlı olabileceği düşünülmüştür (131).

AT2R düzeyi ile kardiyovasküler hastalığın ciddiyeti arasında yakın bir korelasyon gösterilmiştir. Ancak AT2R'nin fazla sentezlenmesinin faydalı olup olmadığı konusunda net bir sonuca varılamamış, çelişkili bulgular rapor edilmiştir. AT2R aracılı yanıtın büyük ölçüde reseptörün sentez seviyesine bağlı olduğu görülmüştür. AT2R'nin aktivasyonunun kardiyovasküler hastalığa yararlı olduğunu gösteren çalışmalarda, AT2R seviyeleri AT1R'ye göre yaklaşık% 20-35 idi (56). Tersine, AT2R'nin zararlı etkisini gösteren çalışmalarda AT2R'nin AT1R'ye benzer veya daha yüksek seviyede olduğu gösterilmiştir (128,131).

Ang II'nin (AT1R aracılığıyla) pro-fibrotik etkilerine esas olarak pro-sklerotik büyüme faktörü (TGF- β 1) aracılık etmektedir. Hem RAS' ın hem de TGF- β 1'in etkinleşmesinin çeşitli renal ve kardiyovasküler hastalıkların patogenezine katkıda bulunduğu gösterilmiştir (56).

C21 aracılı AT2R aktivasyonunun, kollajen indirgeyen, MMP'ler ve transforme edici büyüme faktörü (TGF) - β 1 arasındaki karmaşık bir etkileşimi gösteren çok sayıda çalışmada güçlü anti-fibrotik özelliklere sahip olduğu gösterilmiştir. AT2R nin C21 tarafından direkt uyarılması lökosit adezyonunu ve tümör nekroz faktör (TNF)- α yı azaltır. Ancak bu etkiler AT2R antagonisti olan PD123319'un varlığı ile tamamen ortadan kaldırılır (56).

Hücreler oksidatif hasarı önleyen ya da kısmen azaltan mekanizmalara sahiptir. Doku hasarının tetiklemesi ile gelişen biyokimyasal olaylarda antioksidan sistem yetersiz kalmaktadır. İskemik dokuda oksidanlara bağlı olarak iskemi süresince glutasyon miktarının azaldığı ve SOD, CAT ve GPx gibi enzimlerin inhibisyonunun hızlandığı ve buna bağlı olarak hücrelerin reperfüzyon sırasında hızla oluşan oksijen radikallerinin etkisine daha duyarlı hale geldiği rapor edilmiştir(132).

ISO ile indüklenmiş kardiyotoksisitede doku savunma sistem aktivitesinin azaldığını gösteren birçok çalışma bulunmaktadır. Bizim çalışmamızda da diğer

çalıřmalara benzer olarak ISO ile kardiyak hasar oluřturduėumuz ratların kalp dokusundan elde ettiėimiz örneklerde antioksidan enzimlerden tGSH (Glutasyon), CAT ve GSH seviyelerinin istatikselsel olarak anlamlı derecede dūřmūř olduėunu gōrdük. ($p<0.05$) Oksidatif stresin diėer gōstergelerinden biri olan MPx ve MDA seviyesinin ise antioksidan enzimlere ters olarak artmıř olduėunu tespit ettik. Deney sonuēlarımızda ISO grubu kontrole gōre anlamlı derecede dūřük glutasyon (GSH) seviyesi verirken Valsartan+ C21+ ISO tedavi grubu muhtemel sinerjistik etkiyle ISO hasarını önemli oranda engellemiřtir. Ayrıca ISO grubu katalaz aktivitesi bakımından kontrole gōre anlamlı dūřūř sergilemiř ancak tedavi gruplarından sadece Valsartan+C21+ISO grubu anlamlı koruyucu etki gōstermiřtir.

Hücredeki MDA seviyesi lipid peroksidasyonunun önemli bir gōstergesidir. Hücrelerdeki artışı oksidatif stres belirtisi olup hücre bütünlüğünün bozulmasını tetikler. Çalışmamızda ISO grubunda diğer tüm gruplara oranla anlamlı bir lipid peroksidasyonu artışı gōrölmesi buna karşılık hem Valsartan hem C21 hem de Valsartan+C21 kontrol ve tedavi gruplarında ISO grubuna gōre anlamlı dūřūřün olması lipid peroksidasyonundan koruyucu etkiyi gōstermiřtir.

Goyal S. ve ark. nın çalışmasında da bizim sonuēlarımıza benzer şekilde ISO kontrol grubunda GSH ve katalaz seviyesi anlamlı derecede dūřük bulunmuştur. MDA seviyelerinde ISO kontrol grubunda artış saptanmıştır. Valsartan 60 mg grubunda GSH, SOD ve katalaz seviyesinde ISO kontrol grubu ile karşılaştırıldığında artma ve MDA seviyesinde azalma saptanmıştır. Bayir Y. ve ark. nın çalışmasında da aynı sonuēlara rastladık. Valsartan +ISO grubu, ISO grubu ile karşılaştırıldığında SOD ve CAT aktivitesinde artış MDA düzeyinde ise dūřūř saptanmıştır.

NO vazodilatasyon, nörotransmisyon ve antimikrobiyal savunma mekanizmalarında görev alan önemli bir moleköl olup dokuda fazla oluşması durumunda oksidan özellik gōstermektedir. Bu da doğrudan ya da dolaylı olarak doku hasarıyla sonuēlanabilmektedir. Deney sonuēlarına gōre ISO grubu Valsartan ve Valsartan+C21 kontrol gruplarına oranla anlamlı olarak ($p<0.05$) yüksek NO seviyesine sahiptir. Buna karşılık Valsartan+ISO ve C21+ISO tedavi grupları ISO grubundan anlamlı olarak dūřük ($p<0.05$) NO seviyesi gōstermiřtir.

NO, kronik kalp yetersizliği olan hastalarda sol ventrikül fonksiyonlarının düzenlenmesinde görev almaktadır. Kalp yetersizliği olan hastalarda iNOS aracılı artmış kardiyak NO üretimi, beta adrenerjik uyarıya cevaben oluşan pozitif inotropiyi zayıflatmakta ve gevşemeyi hızlandırmaktadır. Ayrıca, nNOS kaynaklı NO'nun da yetmezlik olan kalpte arttığı düşünölmektedir (133).

Bizim çalışmamızda olduğu gibi ratlarda isoproterenolle oluşturulmuş kalp yetmezliği modellerinde, NO sentaz kapasitesinde artma gözlenmiştir. Bu artışa rağmen, yetersizlik olan kalpte kasılma fonksiyonu üzerinde olumlu etki gözlenmemiştir. Fakat oluşan bu NO'nun, kalp hızı üzerine etkileri olabileceği öngörölmüştür. Bu etkiler; bazal kalp hızını artırmak ve beta adrenerjik uyarıya cevaben oluşan pozitif kronotropiye katkı sağlamak olarak sıralanabilir(133).

Çalışmamızda ortalama kan basınçları açısından gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark tespit edilmiş olup kalp hızı açısından ($p=0.217$) anlamlı fark saptanmamıştır. Sistolik kan basıncı değerlendirildiğinde; VAL + C21 ve C21+ISO verilen grupta kontrol grubuna göre anlamlı düşme tespit edilmiştir.($p=0.029$) Ayrıca sistolik kan basıncı tüm tedavi gruplarında ISO grubuna göre anlamlı düşüş göstermiştir..($p < 0.05$) Ortalama ve diastolik kan basınçlarında ise ISO grubunda kontrol grubuna göre artış dikkati çekmiş, ortalama kan basıncındaki artışın VAL,C21 ve VAL+C21 kontrol gruplarında ISO grubuna göre anlamlı şekilde düştüğü görölmüştür.($p=0.004$)

Goyal ve ark. (5) valsartan 15,30 ve 60 mg/kg verilen gruplarda bizim çalışmamızdakine benzer şekilde sistolik, diastolik ve ortalama kan basıncının kontrol grubu ile karşılaştırıldığında anlamlı derecede düştüğünü görmüştür. ($p < 0.01$). Tüm gruplarda kalp hızındaki değişimde anlamlı farklılık saptanmamıştır.

ISO ile tedavi edilen grupta QT aralığında belirgin bir artış saptandı. Uzun QT, ISO sonrası gelişen aritmi riskinin ve ventriküler disfonksiyonunun göstergesi olarak yorumlanabilir. Ayrıca bu sıçanlarda düşük ejeksiyon fraksiyonu ventrikül disfonksiyonunun desteklemektedir (134).

Biriken kanıtlar, anjiyotensin reseptör blokerlerinin (ARB'ler) ve anjiyotensin dönüştürücü enzim inhibitörünün (ACEi) kan basıncını düşürme ve renal hastalıkların

patolojisini iyileştirme etkilerine AT2R'nin aracılık ettiğini öne sürmüştür. Nitekim ARB ile önceden tedavi edilen hayvanlarda AT2R düzeylerinin arttığı ve ARB ve ACEi'nin koruyucu etkilerinin AT2R'nin blokajı ile tamamen ortadan kalktığı bulunmuştur (56).

AT2R'nin deneysel bir SHR modelinde, C21 ile doğrudan uyarılması, aortik oksidatif stres, makrofaj infiltrasyonu ve kollajen depozisyonunu inhibe etme kabiliyeti ile vazodilatasyonu desteklemiş ve vasküler yaralanma ve miyokardiyal fibrozisi azaltmıştır (135,136).

C21'e yanıt olarak vazodilatasyon, Verdonk K. ve arkadaşlarının çalışmasında sıçanların ve farelerin koroner, iliak ve mezenterik arterlerinde gösterilmiştir (137). C21'in vazodilatör etkisi doz bağımlı olarak ortaya çıkar. Yüksek konsantrasyonlarda C21'e vazodilatör yanıtı, AT1R'nin de aktivasyonu nedeniyle kısa süreli bir vazokonstriksiyonun izlediği bulunmuştur (137). Ek olarak, bu çalışmadan elde edilen bulgular, C21'in AT2R üzerine doğrudan etkisinin yanında, hücrel kalsiyum taşınmasını da bloke ederek vazodilatasyona neden olduğunu ileri sürmüştür. AT2R'nin koroner dolaşımdaki vazodilatör cevabına, NO'ya bağımlı bir yolağın aracılık ettiği gösterilmiştir. Zhang ve ark. tarafından yürütülen çalışmalar bir NO sentaz inhibitörünün varlığının AT2R aracılı vazodilatör cevabı yok ettiğini göstermiştir (138).

AT2R aktivasyonunun kan basıncı üzerinde herhangi bir etkisi olup olmadığı konusu hala tartışmalıdır. C21'in aracılık ettiği yararlı etkilerin kan basıncından bağımsız olduğunu gösteren çok sayıda çalışma, AT2R'nin aktivasyonunun sınırlı bir sistemik hemodinamik durum olduğunu düşündürmektedir. Bu gözlem, yağsız ve obez-normotansif hayvanlarda (120,139) ve ayrıca SHR ve inmeye eğilimli SHR(135) gibi modellerde olduğu gibi çok sayıda hipertansif hayvan modelinde de gösterilmiştir. Dahası NO üretiminin inhibisyonu yoluyla artan kan basıncının neden olduğu genetik olmayan hipertansiyon modelleri C21'in anti-hipertansif etkisinin olmadığını göstermiştir (140).

Önceki çalışmalar SHR'de C21'in kan basıncını düşürücü etkisini göstermişti (11).Ancak bu deneyler, ciddi RAS aktivasyonuna neden olan anestezi uygulanmış hayvanlar üzerinde gerçekleştirilmiştir. Çeşitli çalışmalardaki farklı C21 konsantrasyonları, kan basıncı yanıtında gözlemlenen farklılıkları açıklayabilir.

Bosnyaket ve arkadaşlarının yaptığı çalışmalar C21'in çok yüksek konsantrasyonda AT1R aktivasyonuna neden olduğunu ve kan basıncını artırdığını göstermiştir (136).Bu, C21'in çok yüksek dozda verildiğinde (1uM'den büyük) diğer reseptörler üzerindeki etkisini gösterir. Monoterapi olarak verildiğinde AT2R agonistinin kan basıncını düzenlemede sınırlı bir etkisi olduğu görülse de, bir ARB ile birlikte uygulandığında anti-hipertansif yanıt gözlenmiştir (136).Bu nedenle AT2R ile ilişkili mekanizmaların özellikle de AT2R fenotipinin patolojik koşullar altında neden ve nasıl değiştiğinin daha iyi anlaşılması terapötik potansiyelini arttıracaktır.

AT2R geni X-kromozomu üzerinde bulunduğundan, çeşitli çalışmalar, AT2R ekspresyonunun ve aracılık ettiği işlevlerin cinsiyete özgü olabileceğini öne sürmektedir. AT2 reseptör ekspresyonu dişi sıçan ve farelerde erkeklerle karşılaştırıldığında daha yüksek bulunmuştur. Bu nedenle, cinsiyet farkının, AT2R aracılı kan basıncının ve böbrek fonksiyonlarının düzenlenmesini etkileyebileceği öne sürülmüştür (141).

Önceki çalışmalar, AT2R ekspresyonunun östrojen varlığında arttığını göstermiştir. AT2R ve östrojen arasında yakın bir korelasyon bulunduğu göz önüne alındığında, kadın hormonların AT2R'nin cinsiyete özgül rolüne katkıda bulunmasında önemli rol oynadığı kabul edilebilir; kadınlar AT2R aracılı etkilerden büyük ölçüde fayda sağlayabilir (142).

6. SONUÇ

Anjiyotensin II, tip 1 (AT1R) ve tip 2 (AT2R) reseptör alt tipine güçlü afinite ile bağlanan renin-anjiyotensin sisteminin başlıca efektörü olarak kabul edilmektedir. Bununla birlikte, her iki reseptörün de aktivasyonunun, farklı sinyal mekanizmalarını uyarması ve farklı biyolojik tepkiler üretmesi muhtemeldir. Ang II'nin hemodinamik ve hemodinamik olmayan etkilerine, kan basıncını düzenleme, sıvı elektrolit dengesini koruma, vazokonstriksiyon ve hücrel büyüme destekleme becerisi de dahil olmak üzere öncelikli olarak AT1R'nin aracılık ettiği bilinmektedir. AT2R alt tipinin biyolojik ve işlevsel etkileri halen iyi anlaşılmamıştır. Son zamanlarda yapılan çalışmalar, AT2R'nin aktivasyonunun doku ve organ gelişimini düzenlediğini ve belirli bağlamda AT1R aracılı eylemlere karşı potansiyel bir düzenleyici mekanizma sağladığını vurgulamıştır.

Çalışmamızda isoproterenol ile kalp hasarı oluşturduğumuz ratlarda AT2 reseptör agonisti C21 ve AT1 reseptör antagonisti Valsartan'ın kalp yetmezliğinden koruyucu etkisini inceledik. ISO tarafından indüklenen kalp yetmezliği, çeşitli kardiyoprotektif ajanların etkilerini incelemek için güvenilir invaziv olmayan deneysel bir model sunmaktadır.

Genel olarak çalışmada gözlemlenen elektrokardiyografik ve ekokardiyografik ölçümlerdeki düzelme, biyokimyasal ve histolojik değişiklikler ile de korele idi. C21, Valsartan ve ikisinin kombine kullanımı ISO ile gelişen sol ventrikül sistolik disfonksiyonunu önledi. C21 in kardiyoprotektif etkileri ekokardiyografik ve biyokimyasal olarak valsartana benzerken; histopatolojik olarak C21 valsartana üstün bulundu. Hem C21 hem de valsartan normotansif ratlarda ortalama kan basıncını düşürdü. C21 in vazodilatör etkisinin NO aracılı olduğu düşünülmektedir.

Çalışmamızdan farklı olarak ratlardan kan örneği alınıp kalp yetmezliğinin biyo belirteci olan pro-BNP çalışılabilir. Ayrıca kardiyak hasarın değerlendirilmesi için kalp dokusu ya da kan örneklerinden CK, CK-MB, AST, troponin ve miyogloblin düzeylerine bakılabilir. Kan biyokimya araştırması için rat spesifik kitler gerekmektedir. Aynı tetkikler doku biyokimyasında da çalışılabilir. Çalışmamızda C21 in sadece koruyucu

etkisi araştırılmış tedavi edici etkisi değerlendirilmemiştir. Bu konuda yapılacak yeni çalışmalara ihtiyaç duyulmaktadır.

İlk selektif, non-peptid, in vivo ve oral alındığında aktif olan AT2 reseptör agonisti C21 in sentezi AT2 reseptör araştırmalarında yeni bir dönemi başlatmıştır. Elverişli farmakokinetik özelliklerinden dolayı C21 ilaç adayı olmaya müsaittir. C21'nin, renal koruyucu etkisine benzer şekilde, genetik yatkınlık ve altta yatan hastalığın etiyojisi göz önüne alınmaksızın, birçok deneysel kalp hastalıkları modelinde koruyucu olduğu gösterilmiştir. Kendi çalışmamızda da kardiyoprotektif etkisini gördüğümüz C21 kalp yetmezliği tedavisinde yüz güldürücü yeni bir ajan olabilir.

Sonuç olarak, AT2R'den oluşan koruyucu RAS, yeni bir terapötik platform olarak kabul edilmektedir. AT2R agonistlerinin mevcudiyeti, hastalık durumunda AT2R'nin patofizyolojik ve onarım mekanizmalarını anlamaya yönelik bilgiler sağlamış ve yeni nesil terapötik yaklaşımları temsil edebilmiştir.

KAYNAKLAR

1. Bonow: Braunwald's Heart Disease- A Textbook of Cardiovascular Medicine, 9th ed.2012.
2. Çavuşoğlu Y, Altay H, Ekmekçi A, Eren M, Küçüköğlü MS, Nalbantgil S, Sarı İ, Selçuk T, Temizhan A, Ural D, Weinstein JM, Yeşilbursa D, Yılmaz MB, Zoghi M, Aydoğdu S, Kutlu M, Özer N, Şahin M, Tokgözoğlu L. Kronik kalp yetersizliği tedavisinde pratik yaklaşımlar. The Anatolian Journal of Cardiology 2015, 15: 1-65
3. Samara MA, Wilson Tang WH. Kalp Yetmezliği ve Transplantasyon. İçinde: Kardiyovasküler Hastalıklar El Kitabı, Erol Ç, Atalar E, Manual of Cardiovascular Medicine, Griffin BP. 4. Baskı, Güneş Tıp Kitabevleri, 2014: 125-237
4. Houser SR, Margulies KB. Is depressed myocyte contractility centrally involved in heart failure Circ Res 2003; 92:350-8.
5. Goyal S, Bharti S, Sahoo C K, Sharma K A, Arya D S. Valsartan, an Angiotensin II Receptor Blocker, Attenuates Cardiac Dysfunction and Oksidative Stress in Isoproterenol –Induced Cardiotoxicity. Cardiovasc Toxicol (2011) 11: 148-56
6. Georgiopoulou W, Kalogeropoulos AP, Butler J, Heart failure in hypertension: prevention and treatment. Drugs 2012;72 (10): 1373-98
7. Touyz RM, Schiffrin EL. Signal Transduction Mechanisms Mediating the Physiological and Pathophysiological Actions of Angiotensin II in Vascular Smooth Muscle Cells. Pharmacol Rev, 2000; 52: 641.
8. Wright JW, Krebs LT, Stobb JW, Harding JW. The Angiotensin IV system: Functional implications. Front Neuroendocrinol, 1995; 16: 23-52
9. Lazard D, Villageois P, Briand-Sutren MM, Cavaille F, Bottari S, Strosberg AD, Nahmias C. Characterization of a membrane glycoprotein having pharmacological and biochemical properties of an AT2 angiotensin II receptor from human myometrium. Eur J Biochem 1994;220:919-26
10. Unger T. The angiotensin type 2 receptor: variations on an enigmatic theme. J Hypertens, 1999; 17: 1775-86.

11. Wan Y, Wallinder C, Johansson B, Holm M, Mahalingam AK, Wu X, et al. First reported non-peptide AT1 receptor agonist (L-162,313) acts as an AT2 receptor agonist in vivo. *J Med Chem* 2004; 47:1536-46
12. Steckelings UM, Larhed M, Hallberg A, Widdop RE, Jones ES, Wallinder C, Namsolleck P, Dahlöf B, Unger T. Non-peptide AT2- receptor agonists. *Current Opinion in Pharmacology* 2011, 11: 187-92
13. Blankley CJ, Hodges JC, Klutchko SR, Himmelsbach RJ, Chucholowski A, Connolly CJ, et al. Synthesis and structure-activity relationships of a novel series of nonpeptide angiotensin II receptor binding inhibitors specific for the AT2 subtype. *J Med Chem* 1991;34:3248-60.
14. Ponikowski P, Voors AA, Anker SD, Bueno H, Cleland JGF, Coats AJS, Falk V, Gonzalez-Juanatey JR, Harjola VP, Jankowska EA, Jessup M, Linde C, Nihoyannopoulos P, Parissis JT, Pieske B, Riley JP, Rosano GMC, Ruilope LM, Ruschitzka F, Rutten FH, Meer P. 2016 ESC Guidelines for the diagnosis and treatment of acute and chronic heart failure : The Task Force for the diagnosis and treatment of acute and chronic heart failure of the European Society of Cardiology (ESC): Developed with the special contribution of the Heart Failure Association (HFA) of the ESC 2016; 2-85
15. Kelder JC, Cramer MJ, van Wijngaarden J, van Tooren R, Mosterd A, Moons KG, Lammers JW, Cowie MR, Grobbee DE, Hoes AW. The diagnostic value of physical examination and additional testing in primary care patients with suspected heart failure. *Circulation*;124(25) :2011: 2865–73.
16. Butler J, Fonarow GC, Zile MR, Lam CS, Roessig L, Schelbert EB, Shah SJ, Ahmed A, Bonow RO, Cleland JGF, Cody RJ, Chioncel O, Collins SP, Dunmon P, Filippatos G, Lefkowitz MP, Marti CN, McMurray JJ, Misselwitz F, Nodari S, O'Connor C, Pfeffer MA, Pieske B, Pitt B, Rosano G, Sabbah HN, Senni M, Solomon SD, Stockbridge N, Teerlink JR, Georgiopoulou VV, Gheorghide M. Developing therapies for heart failure with preserved ejection fraction: current state and future directions. *JACC Heart Fail* 2014;2:97–112
17. Borlaug BA, Paulus WJ. Heart failure with preserved ejection fraction: pathophysiology, diagnosis, and treatment. *Eur Heart J* 2011;32:670–79
18. McMurray JJ, Clinical practice. Systolic heart failure. *N Engl J Med*. 2010; 362: 228–385.

19. Sanderson JE, et al. Heart failure: a global disease requiring a global response. *Heart* 2003;89:585-6
20. Braunwald E, Zipes DP, Libby P, Bonow RO. *Heart Disease A Textbook of Cardiovascular Medicine* 7th Edition Chapter 19-26: 457-652.
21. Tavazzi L. Towards a more precise definition of heart failure aetiology. *Eur Heart J* 2001; 22:192- 95
22. Ackerman MJ, Priori SG, Willems S, Berul C, Brugada R, Calkins H, Camm AJ, Ellinor PT, Gollob M, Hamilton R, Hershberger RE, Judge DP, Le Marec H, McKenna WJ, Schulze-Bahr E, Semsarian C, Towbin JA, Watkins H, Wilde A, Wolpert C, Zipes DP. HRS/EHRA expert consensus statement on the state of genetic testing for the channelopathies and cardiomyopathies: this document was developed as a partnership between the Heart Rhythm Society (HRS) and the European Heart Rhythm Association (EHRA). *Heart Rhythm* 2011;8:1308–39.) (Hogg K, Swedberg K, McMurray J. Heart failure with preserved left ventricular systolic function; epidemiology, clinical characteristics, and prognosis. *J Am Coll Cardiol* 2004;43:317–27.
23. Lam CS, Donal E, Kraigher-Krainer E, Vasan RS. Epidemiology and clinical course of heart failure with preserved ejection fraction. *Eur J Heart Fail* 2011;13:18–28
24. Braunwald E: Normal and abnormal myocardial function In: Ed. Fauci AS et al. *Harrison's Principles of Internal Medicine*, 14th ed. McGraw Hill, 1998:
25. Cohn JN. Structural basis for heart failure. Ventricular remodeling and its pharmacological inhibition. *Circulation*. 1995; 91: 2504-7.
26. Davie AP, Francis CM, Caruana L, Sutherland GR, McMurray JJ. Assessing diagnosis in heart failure: which features are any use? *QJM* ;90(5): 335–39, 1997.
27. Oudejans I, Mosterd A, Bloemen JA, Valk MJ, van Velzen E, Wielders JP, Zuithoff NP, Rutten FH, Hoes AW. Clinical evaluation of geriatric outpatients with suspected heart failure: value of symptoms, signs, and additional tests. *Eur J Heart Fail*;13(5): 518–27, 2011.
28. Hawkins NM, Petrie MC, Jhund PS, Chalmers GW, Dunn FG, McMurray JJ. Heart failure and chronic obstructive pulmonary disease: diagnostic pitfalls and epidemiology. *Eur J Heart Fail*;11(2): 2009: 130–9.

29. Daniels LB, Clopton P, Bhalla V, Krishnaswamy P, Nowak RM, McCord J, Hollander JE, Duc P, Omland T, Storrow AB, Abraham WT, Wu AH, Steg PG, Westheim A, Knudsen CW, Perez A, Kazanegra R, Herrmann HC, McCullough PA, Maisel AS. How obesity affects the cut- points for B-type natriuretic peptide in the diagnosis of acute heart failure. Results from the Breathing Not Properly Multinational Study. *Am Heart J*;151(5): 999–1005, 2006.
30. Wong CM, Hawkins NM, Petrie MC, Jhund PS, Gardner RS, Ariti CA, Poppe KK, Earle N, Whalley GA, Squire IB, Doughty RN, McMurray JJV. Heart failure in younger patients: the Meta-analysis Global Group in Chronic Heart Failure (MAGGIC). *Eur Heart J* 2014;35:2714 –21
31. Oudejans I, Mosterd A, Bloemen JA, Valk MJ, Van Velzen E, Wielders JP, Zuithoff NP, Rutten FH, Hoes AW. Clinical evaluation of geriatric outpatients with suspected heart failure: value of symptoms, signs, and additional tests. *Eur J Heart Fail* 2011;13:518 –27.
32. Davie AP, Francis CM, Caruana L, Sutherland GR, McMurray JJ. Assessing diagnosis in heart failure: which features are any use? *QJM*;90(5): 335–39, 1997
33. Roberts E, Ludman AJ, Dworzynski K, Al-Mohammad A, Cowie MR, McMurray JJV, Mant J. The diagnostic accuracy of the natriuretic peptides in heart failure: systematic review and diagnostic meta-analysis in the acute care setting. *BMJ* 2015; 350
34. Maisel A, Mueller C, Adams K, Anker SD, Aspromonte N, Cleland JGF, Cohen-Solal A, Dahlstrom U, DeMaria A, DiSomma S, Filippatos GS, Fonarow GC, Jourdain P, Komajda M, Liu PP, McDonagh T, McDonald K, Mebazaa A, Nieminen MS, Peacock WF, Tubaro M, Valle R, Vanderhyden M, Yancy CW, Zannad F, Braunwald E. State of the art: using natriuretic peptide levels in clinical practice. *Eur J Heart Fail* 2008;10:824 – 39
35. Madamanchi C, Alhosaini H, Sumida A, Runge MS. Obesity and natriuretic peptides, BNP and NT-proBNP: Mechanisms and diagnostic implications for heart failure. *Int J Cardiol* 2014;176:611 –17.

36. Van Riet EES, Hoes AW, Limburg A, Landman MAJ, van der Hoeven H, Rutten FH. Prevalence of unrecognized heart failure in older persons with shortness of breath on exertion. *Eur J Heart Fail* 2014;16:772 – 77
37. Mant J, Doust J, Roalfe A, Barton P, Cowie MR, Glasziou P, Mant D, McManus RJ, Holder R, Deeks J, Fletcher K, Qume M, Sohanpal S, Sanders S, Hobbs FDR. Systematic review and individual patient data meta-analysis of diagnosis of heart failure, with modelling of implications of different diagnostic strategies in primary care. *Health Technol Assess* 2009;13:1 –207
38. Garbi M, McDonagh T, Cosyns B, Bucciarelli-Ducci C, Edvardsen T, Kitsiou A, Nieman K, Lancellotti P. Appropriateness criteria for cardiovascular imaging use in heart failure: report of literature review. *Eur Heart J Cardiovasc Imaging* 2015;16: 147 –53,
39. Masson S, Latini R, Anand IS, Barlera S, Angelici L, Vago T, Tognoni G, Cohn JN. Prognostic value of changes in N-terminal pro-brain natriuretic peptide in Val-HeFT (Valsartan Heart Failure Trial). *J Am Coll Cardiol* 2008;52:997– 1003
40. Jaarsma T, Strömberg A, Martensson J, Dracup K. Development and Testing of the European Heart Failure Self-care Behaviour Scale. *Eur J Heart Failure*. 2003; 5 (3) : 363–70.
41. Maggioni AP, Anker SD, Dahlström U, Filippatos G, Ponikowski P, Zannad F, Amir O, Chioncel O, Leiro MC, Drozd J, Erglis A, Fazlibegovic E, Fonseca C, Fruhwald F, Gatzov P, Goncalvesova E, Hassanein M, Hradec J, Kavoliuniene A, Lainscak M, Logeart D, Merkely B, Metra M, Persson H, Seferovic P, Temizhan A, Tousoulis D, Tavazzi L. Are hospitalized or ambulatory patients with heart failure treated in accordance with European Society of Cardiology guidelines? Evidence from 12 440 patients of the ESC Heart Failure Long-Term Registry. *Eur J Heart Fail* 2013;15:1173 –84
42. Kotecha D, Holmes J, Krum H, Altman DG, Manzano L, Cleland JGF, Lip GYH, Coats AJS, Andersson B, Kirchhof P, von Lueder TG, Wedel H, Rosano G, Shibata MC, Rigby A, Flather MD. Efficacy of beta-blockers in patients with heart failure plus atrial fibrillation: an individual-patient data meta-analysis. *Lancet* 2014;384:2235 – 43

43. Zannad F, McMurray JJV, Krum H, Van Veldhuisen DJ, Swedberg K, Shi H, Vincent J, Pocock SJ, Pitt B. Eplerenone in patients with systolic heart failure and mild symptoms. *N Engl J Med* 2011;364:11–21.
44. Faris RF, Flather M, Purcell H, Poole-Wilson PA, Coats AJ. Diuretics for heart failure. *Cochrane Database Syst Rev* 2012; 2: CD003838
45. King JB, Bress AP, Reese AD, Munger MA. Neprilysin inhibition in heart failure with reduced ejection fraction: a clinical review. *Pharmacother J Hum Pharmacol Drug Ther* 2015;35: 823–37
46. McMurray JJ, Packer M, Desai AS, Gong J, Lefkowitz MP, Rizkala AR, Rouleau JL, Shi VC, Solomon SD, Swedberg K, Zile MR, PARADIGM-HF Investigators and Committees. Angiotensin-neprilysin inhibition versus enalapril in heart failure. *N Engl J Med* 2014;371:993–1004
47. Vodovar N, Paquet C, Mebazaa A, Launay J-M, Hugon J, Cohen-Solal A. Neprilysin, cardiovascular, and Alzheimer's diseases: the therapeutic split? *Eur Heart J* 2015;36:902–5.
48. Swedberg K, Komajda M, Bohm M, Borer JS, Ford I, Dubost-Brama A, Lerebours G, Tavazzi L. Ivabradine and outcomes in chronic heart failure (SHIFT): a randomised placebo-controlled study. *Lancet* 2010;376:875–85
49. Granger CB, McMurray JJV, Yusuf S, Held P, Michelson EL, Olofsson B, Ostergren J, Pfeffer MA, Swedberg K. Effects of candesartan in patients with chronic heart failure and reduced left-ventricular systolic function intolerant to angiotensin-converting-enzyme inhibitors: the CHARM-Alternative trial. *Lancet* 2003;362:772–76
50. Taylor AL, Ziesche S, Yancy C, Carson P, D'Agostino R, Ferdinand K, Taylor M, Adams K, Sabolinski M, Worcel M, Cohn JN. Combination of isosorbide dinitrate and hydralazine in blacks with heart failure. *N Engl J Med* 2004;351:2049–57.
51. Ouyang A-J, Lv Y-N, Zhong H-L, Wen J-H, Wei X-H, Peng H-W, Zhou J, Liu L-L. Meta-analysis of digoxin use and risk of mortality in patients with atrial fibrillation. *Am J Cardiol* 2015;115:901–6
52. Ziff OJ, Lane DA, Samra M, Griffith M, Kirchhof P, Lip GYH, Steeds RP, Townend J, Kotecha D. Safety and efficacy of digoxin: systematic review and meta-analysis of observational and controlled trial data. *BMJ* 2015;351:h4451

53. Bavishi C, Khan AR, Ather S. Digoxin in patients with atrial fibrillation and heart failure: a meta-analysis. *Int J Cardiol* 2015;188:99 –101
54. Lip GYH, Ponikowski P, Andreotti F, Anker SD, Filippatos G, Homma S, Morais J, Pullicino P, Rasmussen LH, Marin F, Lane DA. Thrombo-embolism and antithrombotic therapy for heart failure in sinus rhythm. A joint consensus document from the ESC Heart Failure Association and the ESC Working Group on Thrombosis. *Eur J Heart Fail* 2012;14:681 –95
55. Raphael CE, Finegold JA, Barron AJ, Whinnett ZI, Mayet J, Linde C, Cleland JGF, Levy WC, Francis DP. The effect of duration of follow-up and presence of competing risk on lifespan-gain from implantable cardioverter defibrillator therapy: who benefits the most? *Eur Heart J* 2015;36:1676 – 88
56. Chow BSM, Allen TJ. Angiotensin II type 2 receptor (AT2R) in renal and cardiovascular disease. *Clinical Science* 2016; 130: 1307-26
57. Avcı BK, İktimur B, Karadağ B, Öngen Z. Kalp yetersizliği tedavisinde renin anjiyotensin sistemi baskılanması ve bu tedavide valsartanın yeri. *Anadolu Kardiyoloji Dergisi* 2014;14: 19
58. Jones, E.S., Vinh, A., McCarthy, C.A., Gaspari, T.A. and Widdop, R.E. (2008) AT2 receptors: functional relevance in cardiovascular disease. *Pharmacol. Ther.* 120, 292–316
59. Santos, R.A., Simoes e Silva, A.C., Maric, C., Silva, D.M., Machado, R.P., de Buhr, I., Heringer-Walther, S., Pinheiro, S.V., Lopes, M.T., Bader, M. et al. (2003) Angiotensin-(1–7) is an endogenous ligand for the G protein-coupled receptor Mas. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 100, 8258–63
60. Walters, P.E., Gaspari, T.A. and Widdop, R.E. (2005) Angiotensin-(1–7) acts as a vasodepressor agent via angiotensin II type 2 receptors in conscious rats. *Hypertension* 45, 960–66
61. Bosnyak, S., Jones, E.S., Christopoulos, A., Aguilar, M.I., Thomas, W.G. and Widdop, R.E. Relative affinity of angiotensin peptides and novel ligands at AT1 and AT2 receptors. *Clin. Sci. (Lond)*.2011; 121, 297–303
62. Jin L, Ying Z, Hilgers RH, et al. Increased RhoA/Rhokinase signaling mediates spontaneous tone in aorta from angiotensin II-induced hypertensive rats. *J Pharmacol Exp Ther* 2006; 318: 288-95.

63. De Mello WC, Danser AH. Angiotensin II and the Heart On the Intracrine Renin Angiotensin System. *Hypertension* 2000; 35: 1183-88.
64. Levy, B.I. (2005) How to explain the differences between renin angiotensin system modulators. *Am. J. Hypertens.* 18 (9 Pt 2), 134–41
65. Yu, L., Shao, C. and Gao, L. (2014) Developmental expression patterns for angiotensin receptors in mouse skin and brain. *J. Renin Angiotensin Aldosterone Syst.* 15, 139–49
66. Horiuchi M, Akishita M, Dzau VJ. Recent progress in angiotensin II type 2 receptor research in the cardiovascular system. *Brief Review* 1999; 33: 613-21.
67. Booz GW, Baker KM. Role of type 1 and type 2 angiotensin receptors in in angiotensin II induced cardiomyocyte hypertrophy. *Hypertension* 1996; 28: 635-40.
68. Nio Y, Matsuharj H, Muravuwa S, Kanasaki M, Inada M. Regulation of gene transcription of angiotensin II receptor subtypes in myocardial infarction. *J Clin Invest*, 1995; 95: 46-54.
69. Lopez J, Lorell BH, Ingelfinger JR, et al. Distribution and function of cardiac angiotensinAT1-and AT2-receptor subtypes in hypertrophied rat hearts. *Am J Physiol* 1994; 36: 844-52.
70. Dzau VJ, Horiuchi M. Differential expression of angiotensin receptor subtypes in themyocardium: a hypothesis. *Eur Heart J* 1996; 17: 978-80.
71. Yamada T, Akishita M, Pollman M, et al. Angiotensin II type 2 receptor mediates vascular smooth muscle cell apoptosis and antagonizes angiotensin type I receptor action: an in vitro gene transfer study. *Life Sci* 1998; 63: 289-95.
72. Busche S, Gallinat S, Bohle RM, et al. Expression of AT1 and AT2 receptors in adultratcardiomyocytes after myocardial infarction: a single-cell RT-PCR study. *Am J Pathol*2000; 157: 605-11.
73. Matsubara H, Kanasaki M, Murasawa S, Tsukaguchi Y, Nio Y, Inada M. Differential gene expression and regulation of angiotensin II receptor subtypes in rat cardiac fibroblasts and cardiomyocytes in culture. *J Clin Invest* 1994; 93: 1592-601.
74. Rogg H, de Gasparo M, Graedel E, Stulz P, Burkart F, Eberhard M, Erne P. Angiotensin II receptor subtypes in human atria and evidence for alterations in patients with cardiac dysfunction. *Eur Heart J* 1996; 17: 1112-20.

75. Wharton J, Morgan K, Rutherford RA, et al. Differential distribution of angiotensin AT₂ receptors in normal and failing human heart. *J Pharmacol Exp Ther* 1998; 284: 323-36.
76. Ohkubo N, Matsubara H, Nozawa Y, Mori Y, Murasawa S, Kijima K, Maruyama K, Masaki H, Tsutumi Y, Shibasaki Y, Iwasaka T, Inada M. Angiotensin type 2 receptors are reexpressed by cardiac fibroblasts from failing myopathic hamster hearts and inhibit cell growth and fibrillar collagen metabolism. *Circulation* 1997; 96: 3954-62.
77. Berry C, Touyz R, Dominiczak AF, Webb RC, Johns DG. Angiotensin receptors: signaling, vascular pathophysiology, and interactions with ceramide. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2001; 281: 2337-65.
78. De Gasparo M, Catt KJ, Inagami T, Wright JW, Unger T. International union of pharmacology. XXIII. The angiotensin II receptors. *Pharmacol Rev* 2000; 52: 415-72.
79. Castoldi, G., di Gioia, C.R., Bombardi, C., Maestroni, S., Carletti, R., Steckelings, U.M., Dahlöf, B., Unger, T., Zerbini, G. and Stella, A. Prevention of diabetic nephropathy by compound 21, selective agonist of the angiotensin type 2 receptors, in Zucker diabetic fatty rats. *Am. J. Physiol. Renal Physiol.* 2014; 307, 1123–31
80. Kemp, B.A., Howell, N.L., Gildea, J.J., Keller, S.R., Padia, S.H. and Carey, R.M. AT₂ receptor activation induces natriuresis and lowers blood pressure. *Circ. Res.* 2014; 115, 388–99
81. Hakam, A.C., Siddiqui, A.H. and Hussain, T. (2006) Renal angiotensin II AT₂ receptors promote natriuresis in streptozotocin-induced diabetic rats. *Am. J. Physiol. Renal Physiol.* 290, 503–8
82. Bruce, E., Shenoy, V., Rathinasabapathy, A., Espejo, A., Horowitz, A., Oswald, A., Francis, J., Nair, A., Unger, T., Raizada, M.K. et al. (2015) Selective activation of angiotensin AT₂ receptors attenuates progression of pulmonary hypertension and inhibits cardiopulmonary fibrosis. *Br. J. Pharmacol.* 172, 2219–31
83. Laflamme L, de Gasparo M, Gallo JM, Payet MD, Gallo-Payet N. Angiotensin II induction of neurite outgrowth by AT₂ receptors in NG108-15

- cells. Effect counteracted by the AT1 receptors. *J Biol Chem* 1996; 271: 22729-35)
84. Opie LH, Gersh BJ. *Drugs for the heart*, 8th ed. Philadelphia, Elsevier Press, 2014: 119-69
 85. Tipnis UR, He GY, Li S, Campbell G, Boor PJ. Attenuation of isoproterenol-mediated myocardial injury in rat by an inhibitor of polyamine synthesis. *Cardiovasc Pathol* 2000;9(5):273-80.
 86. Isoproterenol. <http://www.chemsoc.org/exemplarchem/entries/2001/mohataren/Files/isoprot.gif>)
 87. Benjamin IJ, Jalil JE, Tan LB, Co K, Weber KT, Clarc WA. Isoproterenol-induced myocardial fibrosis in relation to myocyte necrosis. *Circ Res* 1989;65: 657-70
 88. Stelzner TJ, Welsh CH, Berger E, McCullough RG, Morris K, Repine JE, Weil JV. Antiarrhythmic agents diminish thiourea-induced pulmonary vascular protein leak in rats. *J Appl Physiol* 1987;63(5):1877-83
 89. Bhagat B, Sullivan JM, Fischer VW, Nadel EM, Dhalla NS. cAMP activity and isoproterenol-induced myocardial injury in rats. *Recent Adv Stud Cardiac Struct Metab* 1976;12:465-70.
 90. Kumari SS, Menon VP. Changes in levels of lipid peroxides and activities of superoxide dismutase and catalase in isoproterenol induced myocardial infarction in rats. *Indian J Exp Biol* 1987;25(6):419-23
 91. Lin Y, Zhang X, Wang L, et al. Polyamine depletion attenuates isoproterenol-induced hypertrophy and endoplasmic reticulum stress in cardiomyocytes. *Cell. Physiol. Biochem.* 2014;34(5):1455–65
 92. Bi F-J, Zhang H, Xu Y-J, Hu J. Protective effect of catalpol on isoproterenol-induced myocardial injury in Wistar rats. *Afr. J. Biotechnol.* 2015;11(38):9270–5
 93. Zhou R, Ma P, Xiong A, Xu Y, Wang Y, Xu Q. Protective effects of low-dose rosuvastatin on isoproterenol-induced chronic heart failure in rats by regulation of DDAH-ADMA-NO pathway. *Cardiovasc Ther.* 2017 Apr;35(2)
 94. Krenek P, Kmecova J, Kucerova D, et al. Isoproterenol-induced heart failure in the rat is associated with nitric oxide-dependent functional alterations of cardiac function. *Eur J Heart Fail.* 2009;11:140–46.

95. Moens AL, Claeys MJ, Timmermans JP, Vrints CJ. Myocardial ischemia / reperfusion - injury, a clinical view on a complex pathophysiological process. *International Journal of Cardiology* 2005;100: 179–90.
96. Hergenç G. Kompleman Sisteminin Aterosklerozdaki Rolü. *Arch TurkSoc Cardiol* 2004; 32:28-37.
97. Erden M. Serbest radikaller. *T. Klinik Tıp Bilimleri Dergisi* 1992;12:201-7.
98. Ulaş T, Büyükhatipoğlu H, Sezen Y, Dal MS, Aydoğan T, Eren MA, Uçar M, Aksoy N, Demirbağ R. Akut dekompanse kalp yetersizliği tedavisinin oksidatif stres üzerine etkisi. *Klinik ve Deneysel Araştırmalar Dergisi*; 2011; 2 (3): 267-72
99. Demircan G, Dıraman E, Demircan S. Kalp hastalıklarında oksidatif stresin rolü. *Türk Kardiyoloji Derneği Arşivi - Arch Turk Soc Cardiol* 2005;33(8):488-92
100. Das UN. Free radicals, cytokines and nitric oxide in cardiac failure and myocardial infarction. *Mol Cell Biochem* 2000; 215(1-2): 145-52
101. Becker LB. Newcon septsinre active oxygen species and cardiovascular reperfusion physiolog. *Cardiovasc Res* 2004; 61: 461-70.
102. Muzykantov VR, Targeting of superoxide dismutase and catalase to vascular endothelium. *JContrRelease* 2001;71:1-21.
103. Gaeta LM, Tozzi G, Pastore A, Federici G, Bertini E, Piemonte F. Determination of superoxide dismutase and glutathione peroxidase activitiesin blood of healty pediatric subjects. *Clin ChimActa*2002;322:117-20.
104. Boengler K, Schulz R. Connexin 43 and Mitochondria in Cardiovascular Health and Disease. *Adv Exp Med Biol.* 2017;982:227-46.
105. Pecoraro M, Sorrentino R, Franceschelli S, Del Pizzo M, Pinto A, Popolo A. Doxorubicinmediated cardiotoxicity: role of mitochondrial connexin 43. *Cardiovasc Toxicol.* 2015;15:366–76
106. Luck H., *Methods of enzymatic analysis.* Verlag Chemie, Academic Press., New York, USA. 1963; 885-8
107. Mccord J.M., Fridovich, I. Superoxide dismutase: An enzymatic function for erythrocyte (hemocuprein). *The Journal of Biological Chemistry.* 1969; 244:6049-55.
108. Lawrance R.A, Burk R.F. Glutathione peroxidase activity in selenium-deficient rat liver. *Biochem. Biophys. Res. Comm.* 1976; 71, 952-8

109. Buege A.J., Aust S.D. Microsomal lipid peroxidation. *Methods Enzymol.* 1978; 52, 302-10.
110. Theodorus P, Akerboom M, Sies H . Assay of glutathione, glutathione disulfide and glutathione mixed disulfides in biological samples. *Methods Enzymol* 1981; 77: 373- 83.
111. Hillegass LM, Griswold DE, Brickson B, Albrightson-Winslow C. Assessment of myeloperoxidase activity in whole rat kidney. *J Pharmacol Methods* 1990; 24(4):285–95.
112. Bradford MM. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Anal. Biochem.* 1976;72:248–54.
113. Bradford MM. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical Biochemistry* 1976; 72: 248-54.
114. Juenger J, Schellberg D, Kraemer S, et al. Health related quality of life in patients with congestive heart failure: comparison with other chronic diseases and relation to functional variables. *Heart* 2002;87(3):235–41
115. Schocken DD, Benjamin EJ, Fonarow GC, et al. Prevention of heart failure A scientific statement from the American Heart Association councils on epidemiology and prevention, clinical cardiology, cardiovascular nursing, and high blood pressure research; Quality of care and outcomes research interdisciplinary working group; and functional genomics and translational biology interdisciplinary working group. *Circulation* 2008;117(19):2544–65
116. Drews O, Tsukamoto O, Liem D, et al. Differential regulation of proteasome function in isoproterenol-induced cardiac hypertrophy. *Circ Res.* 2010;107:1094–101
117. Patel V, Upaganlawar A, Zalawadia R, et al. Cardioprotective effect of melatonin against isoproterenol induced myocardial infarction in rats: a biochemical, electrocardiographic and histoarchitectural evaluation. *Eur J Pharmacol.* 2010; 644:160–8
118. El Shaer SS, Salaheldin TA, Saied NM, Abdelazim SM. In vivo ameliorative effect of cerium oxide nanoparticles in isoproterenol-induced cardiac toxicity. *Exp Toxicol Pathol.* 2017;(17)30032-5

119. Feng W. Li W. The study of ISO induced heart failure rat model. *Experimental and Molecular Pathology*, 2010; 88: 299–304
120. Kaschina E, Grzesiak A, Li J, Ludwig AF, Timm M, Rompe F, et al. Angiotensin 2 type 2 receptor stimulation :A novel option of therapeutic interference with the renin angiotensin system in myocardial infarction? *Circulation* 2008; 118:2523-32
121. Lauer D, Slavic S, Sommerfeld M, Sharkovska Y, Hallberg A, Dahlöf B, Kintscher U, Unger T, Kaschina E. Angiotensin type 2 Receptor Stimulation Ameliorates Left Ventricular Fibrosis and dysfunction via regulation of tissue inhibitor of matrix metalloproteinase 1/matrix metalloproteinase 9 axis and transforming growth factor beta- 1 in the rat heart. *Hypertension* 2014; 63: 60–7
122. Bayir Y, Halici Z, Karakus E, Albayrak A, Ferah I, Kabalar E, Keles O et al. Comparing Effects of Lacidipine, Ramipril and Valsartan Against Experimentally Induced Myocardial Infarcted Rats. *Cardiovasc Toxicol* (2012)12:166-74
123. Solakoğlu S, Aytekin Y. *Temel Histoloji*, 11. Baskı. İstanbul, Nobel Tıp Kitapevi, 2009:118.
124. Mohamed SS, Ahmed LA, Attia WA, Khattab MM. Nicorandil enhances the efficacy of mesenchymal stem cell therapy in isoproterenol-induced heart failure in rats. *Biochem Pharmacol*. 2015 Dec 1;98(3):403-11.
125. Qi, Y., Li, H., Shenoy, V., Li, Q., Wong, F., Zhang, L., Raizada, M.K., Summers, C. and Katovich, M.J. Moderate cardiac-selective overexpression of angiotensin II type 2 receptor protects cardiac functions from ischaemic injury. *Exp. Physiol*. 2012; 97, 89–101
126. Yang, Z., Bove, C.M., French, B.A., Epstein, F.H., Berr, S.S., DiMaria, J.M., Gibson, J.J., Carey, R.M. and Kramer, C.M. Angiotensin II type 2 receptor overexpression preserves left ventricular function after myocardial infarction. *Circulation* 2002; 106, 106–11
127. Ichihara, S., Senbonmatsu, T., Price, Jr, E., Ichiki, T., Gaffney, F.A. and Inagami, T. Angiotensin II type 2 receptor is essential for left ventricular hypertrophy and cardiac fibrosis in chronic angiotensin II-induced hypertension. *Circulation* 2001; 104, 346–51
128. Yan, X., Price, R.L., Nakayama, M., Ito, K., Schuldt, A.J., Manning, W.J., Sanbe, A., Borg, T.K., Robbins, J. and Lorell, B.H. Ventricular-specific expression of

- angiotensin II type 2 receptors causes dilated cardiomyopathy and heart failure in transgenic mice. *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.*2003; 285, 2179–87
129. Nakayama, M., Yan, X., Price, R.L., Borg, T.K., Ito, K., Sanbe, A., Robbins, J. and Lorell, B.H. Chronic ventricular myocyte-specific overexpression of angiotensin II type 2 receptor results in intrinsic myocyte contractile dysfunction. *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.*2005; 288, 317–27
 130. Matsushita, K., Wu, Y., Pratt, R.E. and Dzau, V.J. Blockade of angiotensin II type 2 receptor by PD123319 inhibits osteogenic differentiation of human mesenchymal stemcells via inhibition of extracellular signal-regulated kinase signaling. *J. Am. Soc. Hypertens.* 2015; 9, 517–25
 131. Xu, J., Sun, Y., Carretero, O.A., Zhu, L., Harding, P., Shesely, E.G., Dai, X., Rhaleb, N.E., Peterson, E. and Yang, X.P. Effects of cardiac overexpression of the angiotensin II type 2 receptor on remodeling and dysfunction in mice post-myocardialinfarction. *Hypertension* 2014; 63, 1251–9
 132. Nath KA, Norby SM. Reactive oxygen species and acute renal failure. *Am J Med* 2000; 109: 655-78.
 133. Özcan G,Şahin EA, Demirel-Yılmaz E. Nitrik Oksidin Kalp İşlevleri Üzerine Etkisi. *Türkiye Klinikleri J Cardiovasc Sci* 2016;28(3):99-117
 134. Mohamed SS, Ahmed LA, Attia WA, Khattab MM. Nicorandil enhances the efficacyof mesenchymal stem cell therapy in isoproterenol-induced heart failure in rats.) *Biochem Pharmacol.* 2015 Dec 1;98(3):403-11
 135. Rehman, A., Leibowitz, A., Yamamoto, N., Rautureau, Y., Paradis, P. and Schiffrin, E.L. Angiotensin type 2 receptor agonist compound 21 reduces vascular injury and myocardial fibrosis in stroke-prone spontaneously hypertensive rats. *Hypertension* 2012; 59, 291–9
 136. Bosnyak, S., Welungoda, I.K., Hallberg, A., Alterman, M., Widdop, R.E. and Jones, E.S. Stimulation of angiotensin AT2 receptors by the non-peptide agonist, Compound 21, evokes vasodepressor effects in conscious spontaneously hypertensive rats. *Br. J. Pharmacol.*2010; 159, 709–16
 137. Verdonk, K., Durik, M., Abd-Alla, N., Batenburg, W.W., van den Bogaerdt, A.J., van Veghel, R., Roks, A.J., Danser, A.H. and van Esch, J.H. Compound 21 induces vasorelaxation via an endothelium- and angiotensin II type 2 receptor-independent mechanism. *Hypertension* 2012; 60, 722–9

138. Zhang, C., Hein, T.W., Wang, W. and Kuo, L. Divergent roles of angiotensin II AT1 and AT2 receptors in modulating coronary microvascular function. *Circ Res* 2003; 92, 322–9
139. Ali, Q. and Hussain, T. (2012) AT2 receptor non-peptide agonist C21 promotes natriuresis in obese Zucker rats. *Hypertens. Res.* 35, 654–60
140. Paulis, L., Becker, S.T., Lucht, K., Schwengel, K., Slavic, S., Kaschina, E., Thöne-Reineke, C., Dahlöf, B., Baulmann, J., Unger, T. and Steckelings, U.M. (2012) Direct angiotensin II type 2 receptor stimulation in Nomega-nitro-L-arginine-methyl ester-induced hypertension: the effect on pulse wave velocity and aortic remodeling. *Hypertension* 59, 485–92
141. Hilliard, L.M., Jones, E.S., Steckelings, U.M., Unger, T., Widdop, R.E. and Denton, K.M. (2012) Sex-specific influence of angiotensin type 2 receptor stimulation on renal function: a novel therapeutic target for hypertension. *Hypertension* 59, 409–14
142. Hilliard, L.M., Mirabito, K.M. and Denton, K.M. (2013) Unmasking the potential of the angiotensin AT2 receptor as a therapeutic target in hypertension in men and women: what we know and what we still need to find out. *Clin. Exp. Pharmacol. Physiol.* 40, 542–50.